


# BIOOPEN



## II OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA DOKTORANTÓW NAUK O ŻYCIU KSIAŻKA ABSTRAKTÓW

WYDZIAŁ BIOLOGII I OCHRONY ŚRODOWISKA  
UNIwersYTET ŁÓDZKI



WYDZIAŁ  
BIOLOGII  
I OCHRONY  
ŚRODOWISKA



Uniwersytet  
ŁÓDZKI

Łódź, 12-14 maja 2016 roku

**II OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA  
DOKTORANTÓW NAUK O ŻYCIU - BIOOPEN**

**KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW**

**ŁÓDŹ, 12 – 14 MAJA 2016 ROKU**



## SPIS TREŚCI

<b>Organizatorzy konferencji</b>	<b>5</b>
<b>Patroni</b>	<b>7</b>
<b>Sponsorzy</b>	<b>9</b>
<b>Patronat medialny</b>	<b>9</b>
<b>Program II Ogólnopolskiej Konferencji Doktorantów</b>	<b>11</b>
<b>Nauk o Życiu BioOpen</b>	
<b>Zaproszeni goście</b>	<b>17</b>
<b>Streszczenia</b>	
<b>Wykład plenarny</b>	<b>23</b>
<b>Sesja <i>Ekologia i ochrona środowiska</i></b>	<b>25</b>
<b>Sesja <i>Biologia molekularna</i></b>	<b>51</b>
<b>Sesja <i>Biologia w medycynie i przemyśle</i></b>	<b>95</b>
<b>Sesja <i>Fizjologia i biotechnologia roślin</i></b>	<b>143</b>
<b>Indeks autorów</b>	<b>179</b>



## **ORGANIZATOR KONFERENCJI**

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
Uniwersytet Łódzki  
Miejsce obrad:  
Pawilon Biologii Molekularnej  
ul. Pomorska 141/143, 90 – 236 Łódź  
[www.biol.uni.lodz.pl](http://www.biol.uni.lodz.pl)

Konferencję przygotowali doktoranci:

Studiów Doktoranckich Biochemiczno-Biofizycznych  
Studiów Doktoranckich Ekologii i Ochrony Środowiska  
Studiów Doktoranckich Genetyki Molekularnej,  
Cytogenetyki i Biofizyki Medycznej  
Studiów Doktoranckich Mikrobiologii, Biotechnologii  
i Biologii Eksperymentalnej

we współpracy ze  
Studenckim Kołem Naukowym Biologów

## **OPIEKUN KONFERENCJI/KOORDYNATOR**

dr hab. Agnieszka Marczak, prof. nadzw. UŁ

## **OPIEKA MERYTORYCZNA SESJI KONFERENCYJNYCH**

dr hab. Michał Grabowski, dr hab. Joanna Żelazna-Wieczorek, prof. nadzw. UŁ  
(*Ekologia i ochrona środowiska*)

prof. dr hab. Wanda Małgorzata Krajewska, dr hab. Magdalena Łabieniec-Watała  
(*Biologia molekularna*)

prof. dr hab. Maria Bryszewska, prof. dr hab. Katarzyna Woźniak  
(*Biologia w medycynie i przemyśle*)

dr hab. Małgorzata Posmyk, prof. nadzw. UŁ, dr hab. Tomasz Sakowicz, prof. nadzw. UŁ  
(*Fizjologia i biotechnologia roślin*)

**Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego:**

mgr Izabela Kołodziejczyk

**Członkowie:**

mgr Kamila Czubak  
mgr Anna Czubatka-Bieńkowska  
mgr Piotr Gadawski  
mgr inż. Michał Gorzkiewicz  
mgr Kamil Hupało  
mgr Piotr Knysak  
mgr Anna Lichota  
mgr Paulina Tokarz

**Komitet Naukowy:**

mgr Piotr Bialik  
mgr Paulina Borówka  
mgr Joanna Hertel  
mgr Paweł Jarosiewicz  
mgr Justyna Nawrocka  
mgr Małgorzata Sieradzka  
mgr Monika Skwarek  
mgr Przemysław Tomczyk

**Dział finansowy:**

mgr Monika Cyrkler  
mgr Dominika Lach

**Wsparcie w zakresie rozliczeń finansowych:**

prof. dr hab. Bożena Bukowska  
dr Beata Sudak

**Dział techniczny:**

mgr Kamil Durka  
mgr Paulina Klos-Wojtczak  
mgr Ewelina Łojewska  
mgr Przemysław Trzepiński  
mgr Sebastian Wawrocki

**Redakcja Książki abstraktów:**

mgr Monika Skwarek i mgr Justyna Nawrocka

## PATRONI



Uniwersytet  
**ŁÓDZKI**

Jego Magnificencja  
Rektor Uniwersytetu Łódzkiego  
Prof. dr hab. Włodzimierz Nykiel



Dziekan Wydziału Biologii i Ochrony  
Środowiska  
Prof. dr hab. Elżbieta Żądzińska



Wojewódzki Inspektorat Ochrony  
Środowiska w Łodzi



Doctoral Science Week



**BiolMed**

Dyrektor Instytutu Biologii Medycznej  
Polskiej Akademii Nauk  
Prof. dr hab. Jarosław Dziadek



European Regional Centre for  
Ecohydrology of the Polish Academy  
Sciences



Polish Federation of Biotechnology



Wojewódzki Fundusz Ochrony  
Środowiska i Gospodarki Wodnej  
w Łodzi





Polskie Towarzystwo Biofizyczne  
Zarząd Główny i Oddział Łódzki



Polskie Towarzystwo Botaniczne



Polskie Towarzystwo Genetyczne



Polskie Towarzystwo Ochrony Przyrody  
SALAMANDRA



Polskie Towarzystwo Biochemiczne



Polskie Towarzystwo Antropologiczne



Towarzystwo Ochrony Krajobrazu



Polskie Towarzystwo Hydrobiologiczne

## SPONSORZY STRATEGICZNI



PRECOPTIC Co.

## SPONSORZY



## PATRONAT MEDIALNY





## Doctoral Science Week

II edycja konferencji BioOpen organizowana jest w ramach programu Doctoral Science Week, promującego interdyscyplinarną współpracę doktorantów nauk ścisłych. W tym samym czasie na UŁ pod jednym wspólnym hasłem odbędą się satelitarne konferencje doktoranckie. Na konferencjach pojawią się wybitni przedstawiciele świata nauki, którzy wygłoszą gościnne wykłady. W tegorocznej edycji Doctoral Science Week uczestniczą dwa wydziały:

- Wydział Biologii i Ochrony Środowiska  
II Ogólnopolska Konferencja Doktorantów Nauk o Życiu – BioOpen 2016

<http://bioopen.pl/>

- Wydział Chemii  
IV Łódzkie Sympozjum Doktorantów Chemii  
<http://www.chemia.uni.lodz.pl/lsdch/>

**PROGRAM II OGÓLNOPOLSKIEJ KONFERENCJI  
DOKTORANTÓW NAUK O ŻYCIU BIOOPEN**

**Czwartek, 12 maja 2016 r.**

- 9.00 – ...      **Rejestracja uczestników**
- 9.45 – 10.00      **Otwarcie konferencji**
- 10.00 – 11.00      **Wykład plenarny: Prof. Wojciech Makałowski, Ph.D.**  
*Instytut Bioinformatyki, Uniwersytet Muenster, Niemcy*  
Skarb ukryty w genomie
- 11.00 – 11.15      **Przerwa kawowa**

**Sesja: Ekologia i ochrona środowiska**

- 11.15 – 12.00      **Wykład: Dr hab. Maciej Bartos**  
*Uniwersytet Łódzki, Łódź*  
Czy przędzie pajęczę to biomateriał przyszłości?
- 12.00 – 12.15      **Seminarium: Wsparcie badań laboratoryjnych przy użyciu spektrofotometrów UV-VIS Mettler Toledo**
- 12.15 – 12.30      **Aneta Majda**  
*Instytut Paleobiologii PAN, Warszawa*  
Zróżnicowanie genetyczne wśród płytkowodnych otwornic bentosowych poprzez Cieśninę Drake'a
- 12.30 – 12.45      **Aleksandra Jaskulska**  
*Uniwersytet Łódzki, Łódź*  
Infekcja wirusowa sinic z rodzaju *Microcystis* w zbiorniku Jeziorsko
- 12.45 – 13.00      **Agnieszka Mroczkowska**  
*Uniwersytet Łódzki, Łódź*  
*Chironomidae* jako wskaźnik zmian środowiska w czasie ostatniego zlodowacenia Szkocji
- 13.00 – 14.30      **Przerwa obiadowa**
- 14.30 – 14.45      **Katarzyna Roguz**  
*Uniwersytet Warszawski, Warszawa*  
Czy większe znaczy lepsze? Rzec o czynnikach wpływających na poziom limitacji pyłkiem u wielosiłu błękitnego (*Polemonium caeruleum*)

- 14.45 – 15.00 **Olga Bemowska-Kałabun**  
*Uniwersytet Warszawski, Warszawa*  
 Praktyczne zastosowanie biotestów – ocena toksyczności podłoża z torów kolejowych
- 15.00 – 15.15 **Monika Rajtor**  
*Uniwersytet Śląski, Katowice*  
 Badanie bioróżnorodności grzybów mikoryzy arbuskularnej w glebie skażonej węglowodarami jako wstęp do oceny ich potencjału we wspomaganiu fitoremediacji
- 15.15 – 15.30 **Patrycja Słodownik**  
*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa*  
 Rola suchej i mokrej plaży w procesie samooczyszczania wody w Wiśle
- 15.30 – 16.30 **Sesja plakatuwa: Ekologia i ochrona środowiska/Przerwa kawowa**
- 16.30 – 19.00 **Wycieczka: Muzeum Kinematografii, Księży Młyn**
- 19.00 - ... **Spotkanie towarzyskie**

**Piątek, 13 maja 2016 r.**

**Sesja: Biologia molekularna**

- 9.00 – 9.45      **Wykład: prof. dr hab. Jarosław Dziadek**  
*Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź*  
Molekularne podstawy lekooporności prątków gruźlicy  
- dlaczego potrzebujemy nowych leków
- 9.45 – 10.00      **Seminarium: Analiza kinetyczna i obrazowanie procesów komórkowych, firma Accela**
- 10.00 – 10.15      **Małgorzata Bohdanowicz**  
*Uniwersytet Gdański, Gdańsk*  
(p)ppNpp – nietypowe nukleotydy i ich hydroliza
- 10.15 – 10.30      **Nikoła Zmarzły**  
*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katowice*  
Markery epigenetyczne w diagnostyce onkologicznej
- 10.30 – 10.45      **Martyna Wojtala**  
*Uniwersytet Łódzki, Łódź*  
Rola metylotransferazy histonów G9a w regulacji cyklu komórkowego śródbłonna mikrowaskularnego HMEC-1
- 10.45 – 11.00      **Przerwa kawowa**
- 11.00 – 11.15      **Aleksandra Skubis**  
*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Katowice*  
Ocena ekspresji genu kodującego osteokalcynę w ADSC różnicowanych w kierunku komórek tkanki kostnej
- 11.15 – 11.30      **Magda Chmielewska**  
*Uniwersytet Wrocławski, Wrocław*  
Wykorzystanie metody flotacji w badaniu oddziaływań kwasu fosfatydowego z białkami na przykładzie syndapiny
- 11.30 – 11.45      **Seminarium: Postęp techniczny mikroskopii optycznej na przykładzie firmy NIKON**
- 11.45 – 12.00      **Marta Kasińska**  
*Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Łódź*  
Wpływ hiperglikemii na ekspresję p53 i zmiany morfologiczne w procesie różnicowania i dojrzewania ludzkich adipocytów wisceralnych

12.00 – 12.15

**Anna Rugowska***Instytut Genetyki Człowieka PAN, Poznań*

Wpływ ekspresji koneksyny 43 w ludzkich komórkach miogennych na poziom zjawisk arytmogennych w modelu szczura pozawałowego

12.15 – 13.45

**Sesje plakatowe: Biologia molekularna oraz Biologia w medycynie i przemyśle/Przerwa kawowa**

13.45 – 15.15

**Przerwa obiadowa****Sesja: Biologia w medycynie i przemyśle**

15.15 – 16.00

**Wykład: Prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim***Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Olsztyn*

Drobnoustroje...naszymi sprzymierzeńcami?

16.00– 16.15

**Ewelina Pilny***Politechnika Śląska, Gliwice*

Wpływ komórek MSC izolowanych z tkanki tłuszczowej na powstawanie naczyń krwionośnych w modelu niedotlenionej kończyny u myszy

16.15 – 16.30

**Kornelia Gajek***Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław*

Haploidentyczny przeszczep komórek hematopoetycznych po deplecji limfocytów  $\alpha/\beta$  TCR jako potencjalna opcja terapeutyczna w przypadku braku dawcy zgodnego w HLA

16.30 – 16.45

**Katarzyna Molska***Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wrocław*

Pałeczki niefermentujące wyizolowane ze środowiska przemysłu kosmetycznego – biofilm bakteryjny i wrażliwość na środki dezynfekcyjne

16.45 – 17.00

**Przerwa kawowa**

17.00 – 17.15

**Julia Zabielska***Politechnika Łódzka, Łódź*

Eradykacja biofilmu bakterii oportunistycznych w obecności naturalnych dezynfektantów

17.15– 17.30

**Paweł Śledziński***Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Poznań*

Wpływ kannabidiolu oraz ekstraktów z roślin *Cannabis sativa* na żywotność i morfologię wybranych linii komórek nowotworowych

17.30– 17.45

**Magdalena Szejka***Uniwersytet Łódzki, Łódź*

Właściwości radioochronne koniugatów polifenolowo-polisacharydowych z wybranych roślin leczniczych

17.45 – 18.00

**Mateusz Dobrowolski***Uniwersytet Warszawski, Warszawa*

Wpływ podstawników w pozycji N7 guaniny analogów kapu na powinowactwo i mechanizm wiązania do izoform ludzkiego czynnika inicjacji translacji eIF4E

21.00 - ...

**Impreza integracyjna**

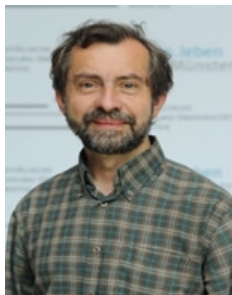


**Sobota, 14 maja 2016 r.****Sesja: Fizjologia i biotechnologia roślin**

- 10.00 – 10.45      **Wykład: Dr hab. inż. Joanna Leszczyńska**  
*Politechnika Łódzka, Łódź*  
Związki biologicznie aktywne w roślinach
- 10.45 – 11.00      **Katarzyna Kozak**  
*Uniwersytet Warszawski, Warszawa*  
Identyfikacja genów potencjalnie zaangażowanych w akumulację cynku w „komórkach magazynujących” mezofilu liści tytoniu
- 11.00 – 11.15      **Małgorzata Palusińska**  
*Uniwersytet Warszawski, Warszawa*  
Geny ZIP w roślinach tytoniu (*Nicotiana tabacum*)
- 11.15 – 11.30      **Elżbieta Rudy**  
*Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań*  
Genotypowanie przez sekwencjonowanie i mapowanie genetyczne markerów cech użytkowych w genomie łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius* L.)
- 11.30 – 12.45      **Sesja plakatowa: Fizjologia i biotechnologia roślin/ Przerwa kawowa**
- 12.45 – 13.00      **Kamil Zieliński**  
*Instytut Fizjologii Roślin imienia Franciszka Górskiego PAN, Kraków*  
Endogenne stężenie glutationu markerem w identyfikacji genotypów żyta (*Secale cereale* L.) podatnych na androgenezę
- 13.00 – 13.15      **Karol Bocian**  
*Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy, Bydgoszcz*  
Fizjologiczne aspekty stosowania nanosrebra w kulturach *in vitro* rzepaku (*Brassica napus* L.): wpływ nanocząstek na cykl komórkowy
- 13.15 – 13.30      **Kamila Kulbat**  
*Politechnika Łódzka, Łódź*  
Wpływ zanieczyszczenia gleby metalami ciężkimi na rośliny aromatyczne z rodziny *Lamiaceae*
- 13.30 – 13.45      **Mateusz Frąć**  
*Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, Skierniewice*  
Wpływ biowęgla na wzrost i plonowanie roślin sadowniczych
- 14.00 – 14.15      **Zakończenie konferencji i wręczenie nagród**
- 14.30 – 16.00      **Obiad**

# **ZAPROSZENI GOŚCIE**

## ZAPROSZENI GOŚCIE



### **Prof. Wojciech Makałowski, Ph.D.**

*Uniwersytet Muenster, Niemcy*

*Instytut Bioinformatyki*

Zainteresowania Pana Profesora Makałowskiego obejmują biologię molekularną, ze szczególnym uwzględnieniem ewolucji na poziomie genomu. W swoich badaniach porusza kwestię elementów transpozycyjnych (transpozonów) oraz ich wpływu na genom gospodarza. Jest również pasjonatem historii nauki oraz filozofii nauki. W swojej karierze naukowej brał udział w wielu spektakularnych, międzynarodowych projektach, m.in. zsekwencjonowanie i analiza genomu *Drosophilla* lub stworzenie H-Invitational Database (H-InvDB), czyli zintegrowanej bazy danych dotyczącej genów człowieka oraz transkryptów. Obecnie jest kierownikiem Instytutu Bioinformatyki na Uniwersytecie Muenster w Niemczech (<http://bioinformatics.uni-muenster.de/home/index.hbi>).

Pan Profesor Makałowski pracował także na Uniwersytecie Stanowym w Pensylwanii, w National Center for Biotechnology Information, oraz na Uniwersytecie w Montrealu. Tytuł doktora uzyskał na Uniwersytecie Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wcześniej na tej samej uczelni studiował biologię i filozofię.

## ZAPROSZENI GOŚCIE



### **Dr hab. Maciej Bartos**

*Uniwersytet Łódzki*

*Katedra Badania Różnorodności Biologicznej,*

*Dydaktyki i Bioedukacji*

Dr hab. Maciej Bartos specjalizuje się w badaniach poświęconych elastyczności behawioralnej, procesom poznawczym i uczeniu się bezkręgowców, w szczególności pajaków. Jego główne osiągnięcia badawcze dotyczą rozpoznania mechanizmów analizy informacji wzrokowej i podejmowania decyzji w trakcie polowania przez polifagiczne pająki skaczące, a także roli wieku i doświadczenia w kształtowaniu się zachowań łowieckich tych zwierząt.

Dr hab. Maciej Bartos angażuje się w różnorodne przedsięwzięcia o charakterze edukacyjnym i popularyzatorskim. Był m.in. członkiem wyprawy zorganizowanej przez BBC badającej przystosowania wysokogórskich pajaków zasiedlających lodowce w Himalajach. Jest członkiem European Arachnological Society, International Society of Arachnology i sekretarzem Komitetu Zoologii PAN.

## ZAPROSZENI GOŚCIE



### **Prof. dr hab. Jarosław Dziadek**

*Instytut Biologii Medycznej PAN  
Pracownia Genetyki i Fizjologii Mycobacterium*

Zainteresowania naukowe Pana Profesora Jarosława Dziadka koncentrują się na identyfikacji białek uczestniczących w procesie podziału komórek prątków *M. tuberculosis*, enzymów biotransformacji związków steroidowych, enzymów biosyntezy kwasów nikolowych, czy białek procesów naprawy DNA oraz ich roli jako potencjalnych tarczy dla leków przeciwgruźliczych.

Pan prof. dr hab. Jarosław Dziadek, stopień naukowy doktora uzyskał na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Jest laureatem wielu prestiżowych nagród i wyróżnień w tym Stypendium Fulbright'a, czy nagrody Komitetu Mikrobiologii PAN im. Basalika za najlepsze prace mikrobiologiczne zrealizowane w polskich laboratoriach, opublikowane w roku 2009. W swym dorobku może poszczycić się stażami w renomowanych jednostkach naukowych w Japonii, Wielkiej Brytanii czy w Stanach Zjednoczonych. Obecnie obejmuje stanowisko kierownika Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi.

## ZAPROSZENI GOŚCIE



**Prof. dr hab. Łucja Łaniewska-  
Trokenheim**

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski*

*Wydział Nauki o Żywności*

*Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności*

Zainteresowania naukowe i prowadzone przez Panią Profesor badania dotyczą m.in: metabolizmu, fizjologii oraz właściwości przeciwdrobnoustrojowych bakterii fermentacji mlekowej, bakterii fermentacji propionowej; jakości mikrobiologicznej żywności z uwzględnieniem drobnoustrojów chorobotwórczych.

Pani Profesor jest autorką łącznie ponad 200 prac. Jest przewodniczącą Olsztyńskiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, członkiem Europejskiej Federacji Towarzystwa Mikrobiologów „Federation of European Microbiological Societies” FEMS, członkiem Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz była członkiem Komitetu Mikrobiologii PAN w kadencji 2011-2014.

## ZAPROSZENI GOŚCIE



**Dr hab. inż. Joanna Leszczyńska**

*Politechnika Łódzka*

*Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności*

Zainteresowania naukowe Pani dr hab. inż. Joanny Leszczyńskiej koncentrują się m.in. na nowoczesnych metodach analizy związków biologicznie czynnych występujących w żywności pochodzenia roślinnego. Zespół Pani Doktor Leszczyńskiej zajmuje się badaniem immunoreaktywności składników żywności i jej zmian w przebiegu procesów technologicznych oraz alergenami występującymi w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego. Ponadto celem badań prowadzonych przez Panią Doktor jest poznanie mechanizmów obronnych roślin w odpowiedzi na stres abiotyczny oraz jego wpływu na jakość żywności.

W ramach współpracy międzynarodowej z zespołem pracowników naukowych z Politechniki Cypryjskiej, dr hab. inż. Joanna Leszczyńska koordynuje etap badań obejmujący analizę związków pochodzenia roślinnego o wysokim potencjale alergennym oraz składników wywołujących nietolerancje pokarmowe.

Pani Doktor Leszczyńska jest prezesem Łódzkiego Oddziału Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności oraz kierownikiem zespołu Analityki Żywności Środowiska na Politechnice Łódzkiej.

# **STRESZCZENIA**

## **Wykład plenarny**



## SKARB UKRYTY W GENOMIE

Prof. Wojciech Makalowski, Ph.D.

*Uniwersytet Muenster, Instytut Bioinformatyki, Niemcy*

W ciągu 3 mld lat ewolucji ilość DNA w komórkach organizmów, od bakterii do ssaków wzrosła o 3 rzędy wielkości. Od dawna wiadomo, że genom człowieka zawiera wiele powtórzonych segmentów, takich jak elementy *Alu*, które występują w setkach tysięcy kopii, a większość genomu ssaków nie koduje białek. Po co nam zatem tyle DNA? Większość badaczy zakładała, że elementy powtarzalne nie mają żadnej funkcji, są po prostu bezużytecznym, samolubnym DNA, który bez większych ograniczeń mnoży się w naszym genomie. Susumu Ohno nazwał te części genomu “śmieciowym DNA”.

Aczkolwiek chwytliwy, termin “śmieciowe DNA” przez wiele lat odstraszał wielu naukowców od badania niekodującego DNA. W końcu, któż oprócz zdziwaczałych „genomowych kloszardów”, chciałby grzebać w śmieciach? Na szczęście w nauce, tak jak to bywa w życiu, zawsze się znajdują tacy, którzy ryzykują swoją reputację eksplorując niepopularne przestrzenie. Dzięki nim właśnie od lat 90. XX wieku osąd śmieciowego DNA zaczął się zmieniać. Obecnie, coraz więcej biologów uważa, że śmieciowe DNA ukrywa prawdziwy skarb. Genomy są bytami dynamicznymi: ciągle powstają nowe funkcjonalne jednostki, a stare zanikają. Oddziałują one z otaczającym je genomowym środowiskiem i wzmacniają możliwości ewolucyjne organizmów.

Szympansy to nasi najbliżsi krewni. Różnice morfologiczne między naszymi gatunkami są na tyle duże, że nie ma problemu z ich odróżnieniem. Natomiast różnice w materiale genetycznym są zaskakująco małe, zbyt małe aby wyjaśnić tak duże różnice fenotypowe. W 1975 r. King i Wilson wysunęli hipotezę, że za te różnice odpowiedzialne są mutacje w systemie regulacji ekspresji genów. Spróbuję dowieść, że elementy mobilne są podłożem przeorganizowywania systemów regulacji ekspresji genów i powinny być uznane za jeden z głównych czynników ewolucji naczelnych.

**STRESZCZENIA**

**Sesja**

**Ekologia i ochrona środowiska**

## CZY NICI PAJĘCZE TO BIOMATERIAŁ PRZYSZŁOŚCI?

Dr hab. Maciej Bartos

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Katedra Badania Różnorodności Biologicznej, Dydaktyki i Bioedukacji,*

Nici i jedwabie są wytwarzane przez kilka grup stawonogów oraz niektóre mięczaki, jednak tylko nici pajęczyste wykorzystywane do budowy sieci łownych posiadają pewne niezwykle właściwości, dzięki którym często określa się je mianem biomateriału przyszłości. Nici tworzące sieci łowne ewoluowały jako adaptacja do wytracania energii kinetycznej przechwytywanych ofiar, stąd do ich najważniejszych właściwości należy bardzo wysoka wytrzymałość i elastyczność, lekkość, wysokie przewodnictwo cieplne i bardzo wysoka lepkość w stanie ciekłym. Pod względem tych cech pajęczyste nici przewyższają wszystkie inne biomateriały i większość materiałów wytwarzanych przez człowieka w ogóle. Białka tworzące nici wyróżnia także kilka innych istotnych cech, jak antyseptyczność, biodegradowalność i wysoka biogodność, dzięki którym mogą mieć szerokie zastosowanie w medycynie. Prace nad wykorzystaniem nici pajęczyczych w różnych dziedzinach życia są prowadzone od ponad dwudziestu lat, ale w ostatnim dziesięcioleciu uległy istotnemu przyspieszeniu w związku z opracowaniem technologii wytwarzania białek przy wykorzystaniu różnych organizmów transgenicznych. Okazuje się jednak, że synteza pajęczej fibroiny nie jest najtrudniejszym etapem na drodze do uzyskania biomateriału przyszłości.

**PRAKTYCZNE ZASTOSOWANIE BIOTESTÓW –  
– OCENA TOKSYCZNOŚCI PODŁOŻA Z TORÓW KOLEJOWYCH**

Olga Bemowska-Kałabun\*, Małgorzata Wierzbicka

*Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Pracownia Ekotoksykologii,  
ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*email autora do korespondencji\*: [olga.bemowska@biol.uw.edu.pl](mailto:olga.bemowska@biol.uw.edu.pl), [wierzbicka@biol.uw.edu.pl](mailto:wierzbicka@biol.uw.edu.pl)*

Biotesty jako jedna z metod bioindykacyjnych, są stosowane do oceny stanu środowiska. Ich celem jest wykazanie obecności substancji toksycznych w środowisku oraz poznanie wpływu tych substancji na organizmy żywe. Biotesty spełniają szereg norm (np. ISO, OECD), dzięki czemu stanowią doskonałe narzędzie badawcze. Połączenie biotestów z badaniami chemicznymi pozwala uzyskać pełną ocenę stanu środowiska.

Przykładem badań wykorzystujących biotesty i metody chemiczne są badania Wierzbickiej i in. (2015) dotyczące oceny stopnia toksyczności i zanieczyszczenia gleb z wybranych obszarów kolejowych (północno-wschodnia Polska). Ocenę toksyczności przeprowadzono za pomocą biotestów: roślinnego (Phytotoxkit), zwierzęcych (Ostracodtoxkit, Daphtoxkit) i bakteryjnego (Microtox). Wybrane próbki podłoża przebadano pod kątem obecności: WWA, PCB, węglowodorów ropopochodnych, metali ciężkich oraz herbicydów. Wykazano synergistyczne działanie niskich dawek (w zakresie norm) kilku zanieczyszczeń razem, co w efekcie spowodowało działanie toksyczne na organizmy. Łączny wpływ zanieczyszczeń na organizmy testowe wywołał silniejszy efekt toksyczny, niż oddziaływania poszczególnych zanieczyszczeń. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że transport kolejowy stanowi zagrożenie dla środowiska w większym stopniu niż się tego spodziewano.

Przykład ten dobrze pokazuje, że przeprowadzenie jedynie badań chemicznych jest niewystarczające i nie oddaje w pełni możliwych zagrożeń dla środowiska.

*Projekt sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, przyznanych na podstawie decyzji DEC – 2011/03/B/NZB/03044.*

Wierzbicka M., Bemowska-Kałabun O., Gworek B. 2015. Multidimensional evaluation of soil pollution from railway tracks. *Ecotoxicology* 24: 805–822.

## INFEKCYJNA WIRUSOWA SINIC Z RODZAJU *MICROCYSTIS* W ZBIORNIKU JEZIORSKO

Aleksandra Jaskulska<sup>1,2\*</sup>, Liliana Serwecińska<sup>2</sup>, Ilona Gagała<sup>2</sup>,

Jakub Pawełczyk<sup>3</sup>, Joanna Mankiewicz-Boczek<sup>1,2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Ekologii Stosowanej,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90-364 Łódź

3) Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź

email autora do korespondencji\*: [ajaskulska@erce.unesco.lodz.pl](mailto:ajaskulska@erce.unesco.lodz.pl)

Cyjanofagi to wirusy specyficzne względem sinic. Sugeruje się, że są one istotnym czynnikiem wpływającym na śmiertelność, różnorodność, ekologię oraz ewolucję swoich gospodarzy w środowisku słodko- i słonowodnym.

Należy podkreślić, że od lat 80 XX w. badania skupiały się głównie na cyjanofagach bytujących w środowisku słonowodnym. Dopiero w ostatniej dekadzie zaczęto rozwijać badania nt. fagów słodkowodnych. Jednakże ekologiczny związek między wirusami specyficznymi dla sinic oraz ich gospodarzami nadal nie jest w pełni zrozumiały.

W związku z powyższym, celem badań było sprawdzenie obecności cyjanofagów z rodziny *Myoviridae* specyficznych dla sinic z rodzaju *Microcystis* w sezonie wiosenno-jesiennym 2012 – 2013 w jednym z największych zbiorników zaporowych Regionu Łódzkiego tj. Zbiorniku Jezioro. Woda w/w zbiornika zdominowana jest przez masowe zakwity m.in. sinic z rodzaju *Microcystis* o potencjale do produkcji hepatotoksyn sinicowych – mikrocystyn. Wyznaczono dynamikę współwystępowania cyjanofagów na podstawie genu *g91* oraz sinic z rodzaju *Microcystis* na podstawie genu 16S rRNA, w tym genotypów toksynogennych na podstawie genu *mcyA* przy użyciu qPCR (ang. *quantitative polymerase chain reaction*).

Wyniki badań wykazały obecność w/w cyjanofagów w eutroficznej wodzie zbiornika. Wirusy pojawiały się wraz z pojawieniem się zakwitu wody z udziałem *Microcystis* i współwystępowały w całym analizowanym okresie, wykazując istotną zależność wobec swoich gospodarzy i ich genotypów toksynogennych.

*Badania finansowane w ramach projektu NCN - UMO 2013/11/N/NZ8/00607 „Dynamika występowania cyjanofagów i ich gospodarzy w dwóch polskich zbiornikach zaporowych” oraz z dofinansowania dla doktorantów w ramach projektu współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, Poddziałanie 8.2.1.*

## **ZRÓŻNICOWANIE GENETYCZNE WŚRÓD PŁYTKOWODNYCH OTWORNIC BENTOSOWYCH POPRZECZ CIEŚNINĘ DRAKE’A**

Aneta Majda<sup>1\*</sup>, Wojciech Majewski<sup>1</sup>, Michał Grabowski<sup>2</sup>, Tomasz Mamos<sup>2</sup>, Jan Pawłowski<sup>3</sup>

1) Instytut Paleobiologii Polskiej Akademii Nauk, Warszawa, Polska

2) Uniwersytet Łódzki, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, Polska

3) Uniwersytet w Genewie, Zakład Genetyki i Ewolucji, Szwajcaria

*email autora do korespondencji\*: amajda@twarda.pan.pl*

Otwornice bentosowe są jedną z powszechnie badanych grup meiobentosu. Są one szeroko rozpowszechnione w wodach Antarktyki i Patagonii. Obecność podobnych morfologicznie gatunków otwornic z Szetlandów Południowych i Patagonii była badana przez niektórych specjalistów zajmujących się tymi organizmami. Dlatego celem naszych badań było sprawdzenie tych powiązań na podstawie danych molekularnych. Porównano genetycznie osiem morfogatunków otwornic bentosowych z różnych obszarów Antarktyki Zachodniej (Szetlandy Południowe, Morze Rossa i Rothera) oraz z południowej Patagonii. Nasze badania molekularne pozwalają zaproponować scenariusze dyspersji, które powiązane są z biogeograficznym rozmieszczeniem analizowanych taksonów.

Uzyskano 99 sekwencji małej podjednostki (SSU) rDNA ośmiu rodzajów otwornic bentosowych z Antarktyki Zachodniej i południowej Patagonii, które zostały zestawione z 216. sekwencjami z Antarktyki. Analiza sekwencji SSU wraz z utworzonymi sieciami haplotypów pokazała różne wzorce biogeograficzne dla różnych otwornic bentosowych. Wysoka różnorodność molekularna u sześciu taksonów przedstawiona została poprzez obecność wielokrotnych molekularnych operacyjnych jednostek taksonomicznych (MOTUs) wewnątrz badanych morfogatunków. Rozmieszczenie różnych MOTUs ograniczone było po obu stronach Cieśniny Drake’a, wskazując na ograniczony przepływ genów pomiędzy Antarktyką i Patagonią. Może to sugerować, że powyższe MOTUs można uznać za odrębne gatunki. Pozostałe dwa morfogatunki charakteryzowało niskie zróżnicowanie genetyczne i były one reprezentowane przez pojedyncze MOTUs, co sugeruje ostatni przepływ genów między Antarktyką Zachodnią i Patagonią. Aby potwierdzić scenariusz ekspansji dla MOTUs, u których na podstawie sieci haplotypów zaobserwowano topologię gwiazdzystą, użyto rozkładu liczby niedopasowań nukleotydowych oraz testów neutralności Tajima’D i Fu’s. Ograniczony przepływ genów u niektórych płytkowodnych otwornic bentosowych może być powiązany z ich rozmieszczeniem batymetrycznym.

## **CHIRONOMIDAE JAKO WSKAŹNIK ZMIAN ŚRODOWISKA W CZASIE OSTATNIEGO ZŁODOWACENIA SZKOCJI**

Agnieszka Mroczkowska\*

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska,  
Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: agnieszka.jagodka21@gmail.com*

Analiza paleologiczna osadów jest powszechnie używanym obecnie narzędziem badawczym do wyznaczania zmian temperatury oraz środowiska w przeszłości. Składa się ona z analizy mikro- i makro- szczątków. Analiza mikroszczątków organizmów obejmuje analizę składu gatunkowego Chironomidae. Na podstawie uzyskanych wyników możemy odtworzyć temperaturę, poziom wody, trofię zbiornika, pH, roślinność wodną oraz wpływ człowieka. Puszki głowowe, które zachowują się w osadzie pozwalają nam odtworzyć historię zbiornika.

Próby do badań zostały pobrane z Quoyloo. Jest to miejscowość położona na archipelagu Orkney umiejscowionego na północ od Szkocji. Wyspy budują paleozoiczne piaskowce. Spotkać można także wiele form polodowcowych. Na wyspach występują licznie jeziora, torfowiska i wrzosowiska.

Trzon krystaliczny archipelagu powstał w orogenezie kaledońskiej, około 600-400 milionów lat temu. Są one efektem zderzenia się płyt Laurazji i Gondwany. Najstarsze odsłonięte skały są z okresu prekambriu i mogą mieć wiek 3-1,5 Ga. Na wyspie znajduje się świetnie zachowana neolityczna osad- Skara Brae z kamiennym Pierścieniem Brodgara.

Obecne ukształtowanie tereny Orkady uzyskały podczas zlodowacenia plejstoceńskiego. Wyspę objął lądolód skandynawski oraz częściowo czapa lodowa. Celem moich badań było sprawdzenie czy czapa lodowa również występowała w Quoyloo, czyli w zachodniej części archipelagu oraz odtworzenie warunków panujących w czasie ostatniego zlodowacenia.

**BADANIE BIORÓŻNORODNOŚCI GRZYBÓW MIKORYZY ARBUSKULARNEJ  
W GLEBIE SKAŻONEJ WĘGLOWODORAMI JAKO WSTĘP DO OCENY ICH  
POTENCJAŁU WE WSPOMAGANIU FITOREMEDIACJI**

Monika Rajtor\*, Zofia Piotrowska-Seget

*Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii,  
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice*

*email autora do korespondencji\*: mrajtor@us.edu.pl*

Fitoremedycja stanowi jedną z najbardziej perspektywicznych metod oczyszczania gleb skażonych węglowodorami. Wykorzystuje ona rośliny oraz związane z nimi mikroorganizmy do pobierania i degradacji zanieczyszczeń organicznych. Ich usuwanie zachodzi głównie w wyniku aktywności mikroorganizmów ryzosferowych, w tym grzybów mikoryzy arbuskularnej (GMA). GMA kolonizują korzenie 80-90% gatunków roślin, zapewniając im lepszy wzrost w warunkach stresowych. Ich grzybnia działa jak biofiltr zanieczyszczeń, stymuluje aktywność enzymatyczną ryzosfery i rozszerza jej zasięg.

Celem pracy była ocena bioróżnorodności populacji GMA w glebie skażonej węglowodorami aromatycznymi (WA). Próby korzeni i gleby ryzosferowej pobrano z terenu Stawu Kalina w Świętochłowicach, silnie skażonego WA oraz z terenu kontrolnego. Ilościową ocenę populacji GMA oparto na ocenie stopnia kolonizacji mikoryzowej korzeni, długości strzępki, liczebności spor oraz ilości markerowego dla GMA kwasu tłuszczowego 16:1ω5 w glebie. Bioróżnorodność genetyczną GMA określono metodą PCR-DGGE (ang. *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) amplifikując fragment genu 18S rDNA.

Stwierdzono, że zanieczyszczenie WA wpływa negatywnie na stopień kolonizacji korzeni przez GMA, natomiast nie ogranicza rozwoju grzybni zewnątrzkorzeniowej. Liczba spor w glebie skażonej była znacznie wyższa niż w glebie kontrolnej, jednak jak wykazała analiza profili DGGE genu 18S rDNA, wiązało się to z dominacją kilku gatunków GMA. Wykazała ona także, że ilość gatunków GMA kolonizujących korzenie nie różni się znacząco w środowisku skażonym i kontrolnym, jest natomiast znacznie wyższa w glebie nieskażonej. Wnioskując, obecność WA hamuje rozwój mikoryzy i prowadzi do selekcji szczepów GMA wykazujących tolerancję na obecne w środowisku zanieczyszczenia. Szczepy te mogą stanowić potencjalne narzędzie wspomagania fitoremedycji gleb skażonych węglowodorami.



**CZY WIĘKSZE ZNACZY LEPSZE? RZECZ O CZYNNIKACH WPŁYWAJĄCYCH  
NA POZIOM LIMITACJI PYŁKIEM U WIELOSIŁU BŁĘKITNEGO  
(*POLEMONIUM CAERULEUM*)**

Katarzyna Roguz<sup>1\*</sup>, Marcin Zych<sup>1</sup>, Emilia Brzosko<sup>2</sup>, Beata Ostrowiecka<sup>2</sup>, Izabela Tałałaj<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Ogród Botaniczny, Aleje Ujazdowskie 4, 00-478 Warszawa

2) Uniwersytet w Białymstoku, Wydział Biologiczno – Chemiczny, Instytut Biologii

email autora do korespondencji : k.roguz@biol.uw.edu.pl

Wielosił błękitny (*Polemonium ceruleum*) jest gatunkiem o kurczącym się zasięgu, umieszczonym na Polskiej Czerwonej Liście Roślin, w kategorii „narażona na wyginięcie” (VU). Liczne badania wskazują, że spadek liczebności populacji może pociągać za sobą poważne skutki genetyczne, ewolucyjne i ekologiczne. Aby poprawnie ocenić status zagrożonego gatunku rośliny i wybrać najlepsze sposoby jego ochrony, należy zrozumieć czynniki wpływające na wielkość tworzonych przez niego populacji. W przypadku roślin okrytonasiennych do takich czynników bez wątpienia należy przebieg procesów rozmnażania, w tym interakcje z zapylaczami. Wraz ze zmniejszaniem się populacji może nastąpić ograniczenie jej potencjału reprodukcyjnego w związku z nasilającym się zjawiskiem limitacji pyłkiem (sytuacja, w której niedostateczna liczba ziaren pyłku trafia na znamiona). Zjawisko to może być następstwem spadku atrakcyjności populacji dla zapylaczy. Wstępne wyniki badań przeprowadzonych na 12 populacjach wielosiłu wykazały, że w niektórych przypadkach może być to gatunek limitowany pyłkiem. Celem przeprowadzonych badań było także określenie czynników mogących mieć wpływ na wystąpienie tego zjawiska oraz ich ewentualnego znaczenia dla zmiany systemu kojarzenia (przejście od obcopolności do samopolności).

## **ROLA SUCHEJ I MOKREJ PLAŻY W PROCESIE SAMOOCZYSZCZANIA WODY W WIŚLE**

Patrycja Słodownik<sup>1\*</sup>, Krzysztof W. Opaliński<sup>2</sup>, Jakub Dobrzyński<sup>1</sup>

1) Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Wydział Rolnictwa i Biologii, Samodzielny Zakład Biologii Mikroorganizmów, ul. Nowoursynowska 159, 02-778 Warszawa

2) Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego, Wydział Filozofii Chrześcijańskiej, Katedra Hydrobiologii i Ochrony Wód, ul. Wóycickiego 1/3, 01-938 Warszawa

email autora do korespondencji\*: p.slodownik@onet.pl

Ekosystem jest układem otwartym składającym się z biocenozy oraz biotopu, w którym następuje przepływ energii oraz krążenie materii. Nośnikiem energii w ekosystemie jest materia organiczna znajdująca się w rozpuszczonych związkach organicznych, biomasie organizmów, obumarłej materii organicznej.

Zanieczyszczenia przedostające się ze zlewni do rzeki są utylizowane w procesie samooczyszczania. Proces oczyszczania wody przebiega zarówno w kolumnie wody, jak i w piaszczystych osadach dennych, ale przede wszystkim w plażach, łachach i otmiąłach. Jego intensywność można zmierzyć poprzez określenie ilości tlenu zużywanego przez organizmy zamieszkujące te subsystemy rzeczne. W przypadku osadów piaszczystych są to organizmy psammonowe zasiedlające plaże, wyspy i łachy piaszczyste. Określenie tej ilości tlenu wymaga zmierzenia całkowitego, biotycznego, abiotycznego zużycia tlenu przez subsystem rzeczny, np. plażę. Zużyta w procesach energetycznych materia organiczna odpowiada ilości zanieczyszczeń usuniętych z wody przez psammon, jest więc miarą samooczyszczania rzeki lub może stanowić „miarę dóbr i usług ekosystemu”.

Celem pracy jest ocena roli suchej oraz mokrej plaży wiślanej w procesie samooczyszczania wody w Wiśle, co stanowi ważny głos w debacie o przyszłości Wisły. Należy wybrać pomiędzy przekształceniem rzeki w kanał żeglutowy a pozostawieniem jej jako „ostatniej dzikiej rzeki w Europie”.

## **WPLYW WYBRANYCH PARAMETRÓW NA OSAD CZYNNY Z OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW MLECZARSKICH**

Olga Andrzejczak\*, Ewa Liwarska - Bizukojć

*Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji : oandrzejczak@gmail.com*

Branża mleczarska stanowi ważną gałąź gospodarki rolnej Polski, która zajmuje szóste miejsce w produkcji mleka wśród krajów Unii Europejskiej. Rynek mleka i przetworów mlecznych jest sektorem dynamicznie się rozwijającym. Jego rozwój generuje także odpady, których właściwe zagospodarowanie jest bardzo istotne z punktu widzenia ochrony środowiska przyrodniczego kraju. Ścieki mleczarskie cechują się znacznie wyższymi wartościami wskaźników zanieczyszczeń oraz zmiennością ładunku zanieczyszczeń, co stanowi utrudnienie w eksploatacji obiektów zajmujących się ich oczyszczaniem.

Celem niniejszej pracy była analiza wpływu takich parametrów pracy oczyszczalni jak wartość chemicznego zapotrzebowania na tlen, stężenie tlenu oraz wartość suchej masy na kłaczkosadu czynnego, w szczególności ich wybrane parametry morfologiczne (średnica, kolistość i wypukłość). Parametry morfologiczne wyznaczono z zastosowaniem technik cyfrowej analizy obrazu. Materiałem badawczym był osad czynny pochodzący z oczyszczalni ścieków mleczarskich funkcjonującej z wykorzystaniem sekwencyjnych bioreaktorów porcjowych (SBR). Wartość suchej masy wahała się od 0,5 do 2,2 g/l. Stężenie tlenu wynosiło od 0,5 do 2,2 mg/l zaś pH badanych prób zawierało się w zakresie od 6,9 do 7,12. Pomimo obserwowanych wahań w wartości chemicznego zapotrzebowania na tlen nie stwierdzono ich znaczącego wpływu na wielkość kłaczek osadu czynnego wyrażoną poprzez ich średnicę. Każdorazowo były to kłaczkosady osadu czynnego charakteryzowane w literaturze jako małe- o średnicach nieprzekraczających 100 mikrometrów. Również wpływ na kształt kłaczek osadu czynnego w analizowanym zakresie ChZT nie był znaczący. Kolistość utrzymywała się na niemal stałym poziomie wynosiła od 0,17 do 0,20, zaś wypukłość zmieniała w szerszym zakresie, od 0,58 do 0,61.

**WSTĘPNE WYNIKI BADAŃ SUBFOSYLYNYCH SZCZĄTKÓW OCHOTEK  
(DIPTERA: CHIRONOMIDAE) W ŚREDNIOWIECZNYM GRODZISKU W ROZPRZY**

Olga Antczak<sup>1\*</sup>, Piotr Kittel<sup>2</sup>, Mateusz Plóciennik<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Zoologii Bezkręgowców i Hydrobiologii, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Nauk Geograficznych, Katedra Geomorfologii i Paleogeografii, ul. Narutowicza 88, 90-139 Łódź

email autora do korespondencji\*: ola.antczak10@gmail.com

Średniowieczne grodzisko w Rozprzy (woj. łódzkie), położone w dolinie Łuciąży, było obiektem prac archeologicznych już w latach 60. W kwietniu 2015 roku rozpoczęto na tym stanowisku nowe, interdyscyplinarne badania, obejmujące między innymi analizy paleoekologiczne. Jedną z grup organizmów, które wykorzystano do rekonstrukcji warunków hydrologicznych w zbiornikach antropogenicznych związanych z grodziskiem są ochotkowate (*Chironomidae*).

Dotychczas przeanalizowane materiały pozyskane zostały z rdzeni pobranych z fos otaczających grodzisko. Uzyskane dotychczas wyniki badań archeologicznych wskazują na intensywne użytkowanie grodu w II połowie XIV w. Zaś wstępne wyniki badań paleośrodowiskowych potwierdzają dane o klimacie środkowej Europy u schyłku małego optimum klimatycznego i w małej epoce lodowej. Na ich podstawie można także wnioskować o zmianach hydrologicznych w dolinie Łuciąży oraz ekologii sztucznych zbiorników wodnych, powszechnie użytkowanych do czasów nowożytnych. Badaniami objęte zostaną również osady pochodzące z pobliskiego paleokoryta Łuciąży wypełnianego osadami organicznymi oraz moczydła założonego w odciętym fragmencie koryta rzecznego.

Dodatkowo identyfikacja szczątków chrząszczy (*Coleoptera*) pozwoli na dokładniejsze poznanie warunków środowiskowych grodziska oraz ocenę kierunków i skali presji człowieka na ekosystem doliny Łuciąży.

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/11/B/HS3/03785.*

## MONITORING BIORÓŻNORODNOŚCI BAKTERII OCZYSZCZAJĄCYCH WODY OSADOWE W SEKWENCYJNYM REAKTORZE PORCJOWYM

Klaudia Chińcza<sup>1,2\*</sup>, Grzegorz Cema<sup>1</sup>, Aleksandra Ziemińska-Buczyńska<sup>1</sup>

1) Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Środowiska i Energetyki, Katedra Biotechnologii Środowiskowej,  
ul. Akademicka 2, 44-100 Gliwice

2) Studenckie Koło Naukowe Biotechnologów, przy Centrum Biotechnologii,  
ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice

email autora do korespondencji\*: [khincza@gmail.com](mailto:khincza@gmail.com)

Mimo, iż do życia organizmów roślinnych i zwierzęcych niezbędne są substancje biogenne, to ich występowanie w nadmiarze może mieć niszczący wpływ na środowisko, do którego zostaną wprowadzone. Ich znaczne ilości znajdują się w ściekach, których głównym odbiornikiem po oczyszczeniu są wody powierzchniowe. Ważne jest więc jak najefektywniejsze usuwanie związków biogennych, na etapie oczyszczania, by nie dopuścić do ich kumulacji skutkującej pogorszeniem stanu środowiska wodnego. Często jednak założenia te nie mogą zostać spełnione, gdyż integralną częścią procesu oczyszczania ścieków jest neutralizacja osadów ściekowych, skutkująca powstaniem wysoko obciążonych wód osadowych. Ich bezpośrednie doprowadzanie do ścieków surowych może powodować spadek efektywności procesu oczyszczania, dlatego też proponuje się stosowanie podczyszczania wód osadowych.

W niniejszej pracy podjęto się zbadania osadu czynnego znajdującego się w sekwencyjnym reaktorze porcjowym (SBR - ang. *Sequencing Batch Reactor*) pełniącym funkcję podczyszczania wód osadowych. Badano zmiany bioróżnorodności biocenozy wszystkich bakterii osadu czynnego oraz bakterii Anammox i nityfikatorów I fazy, ze względu na zastosowanie w układzie połączenia skróconej nityfikacji i procesu Anammox. Do celów badawczych wykorzystano metody biologii molekularnej: reakcję łańcuchową polimerazy (PCR - ang. *Polymerase Chain Reaction*) oraz elektroforezę w gradiencie denaturacji (DGGE - ang. *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) pozwalającą na rozdzielenie produktów PCR. Uzyskane parametry porównano i obserwowano zależność pomiędzy bioróżnorodnością biocenozy a zmianami parametrów fizykochemicznych. Analiza wyników pozwoliła na zaobserwowanie spadku bioróżnorodności bakterii Anammox w trakcie trwania eksperymentu, oraz znacznie mniejsze wahania wartości tego wskaźnika w przypadku nityfikatorów I fazy i ogólnej biocenozy.

*Badania finansowane przez NCBiR w ramach polsko-norweskiego mechanizmu finansowania z projektu BARITECH Polnor/197025/37/2013. (2009-2014).*

## **AKTYWNOŚĆ EMULGACYJNA DROBNOUSTROJÓW ENDOFITYCZNYCH W PROCESIE BIODEGRADACJI WĘGLOWODORÓW**

Piotr Drożdżyński\*, Olga Marchut-Mikołajczyk, Tadeusz Antczak

*Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Biochemii Technicznej,  
ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji\* : drozdzynskipiotr0@gmail.com*

Jednym z głównych surowców wykorzystywanych przez dzisiejszą cywilizację jest ropa naftowa. Niestety awarie podczas wydobywania, rafinacji, transportu i przesyłu tego surowca często prowadzą do zanieczyszczenia środowiska naturalnego związkami ropopochodnymi. Najczęściej stosowaną, a zarazem najbezpieczniejszą i wydajną technologią usuwania ze środowiska związków ropopochodnych jest bioremediacja. Niestety wciąż istotną wadą jest jej długotrwałość. Dlatego też istotnym jest wybór mikroorganizmu prowadzącego rozkład zanieczyszczenia dający możliwość usunięcia skażenia z wysoką efektywnością w jak najkrótszym czasie.

W ostatnich latach świat nauki zwrócił uwagę na możliwość zastosowania w biotechnologii środowiska mikroorganizmów wyizolowanych z roślin – endofitów. Dotychczasowe rozważania na temat endofitów dotyczyły głównie usprawnienia fitoremediacji, niemniej jednak ich unikatowe zdolności umożliwiają ich aplikację do degradacji kontaminantów oraz syntezy ułatwiających biodegradację związków, np. biosurfaktantów.

Z traw pochodzących z terenów zanieczyszczonych związkami ropopochodnymi, wyizolowano siedemnaście szczepów endofitów, a następnie przeprowadzono skrining tych drobnoustrojów w kierunku oceny ich aktywności degradacyjnej oraz emulgacyjnej. Na tej podstawie wybrano dwa szczepy bakterii – EN18, EN2A, wykazujących najwyższą aktywność emulgacyjną (1,91) i degradacyjną (ubytek węglowodorów 93%).

Drobnoustrój produkujący biosurfaktanty (EN18) został poddany testom biochemicznym w celu jego wstępnej identyfikacji. Wyniki testów sugerują, że endofit ten należy do gatunku *Aeromonas* sp.

**BADANIE EFEKTYWNOŚCI FOTOLIZY, PROCESU PROMIENIOWANIE  
SŁONECZNE/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ORAZ FOTOKATALIZY DO ROZKŁADU 5-FLUOROURACYLU**

Agnieszka Fiszka-Borzyszkowska\*, Aleksandra Ofiarska,

Aleksandra Pieczyńska, Ewa Maria Siedlecka

*Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk*

*email autora do korespondencji\*: agnieszka.fiszka@phdstud.ug.edu.pl*

5-fluorouracyl (5-FU) jest jednym z najczęściej stosowanych leków przeciwnowotworowych. Jego obecność w środowisku wodnym niekorzystnie wpływa na żywe organizmy. Charakteryzuje się on kancerogennością, genotoksycznością, mutagennością oraz teratogennością. Stężenie 5-FU w oczyszczonych ściekach szpitalnych i komunalnych wynosi od 4,7 ng /L do 92 ng /L <sup>[1]</sup>. Konwencjonalne technologie oczyszczania ścieków nie są wystarczająco skuteczne, aby osiągnąć wysoką wydajność usuwania tego typu zanieczyszczenia <sup>[2]</sup>. Z tego powodu konieczne jest poszukiwanie alternatywnych metod usuwania tych leków z wód. Ponadto istotne są badania procesów samooczyszczania wód powierzchniowych, do których zaliczamy fotolizę.

Niniejsza praca miała na celu zbadanie rozkładu 5-FU w procesach wykorzystujących sztuczne promieniowanie słoneczne. Określono kinetykę degradacji 5-FU podczas procesu fotolizy w różnych wartościach pH (wg wytycznych OECD 316), w obecności nadtlenu wodoru (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) oraz fotokatalizy w obecności ditlenku tytanu modyfikowanego borem i bizmutem (3Bi-B-TiO<sub>2</sub>). Modyfikacja ta miała na celu wykorzystanie światła w zakresie widzialnym do aktywacji tego katalizatora. Badania wykazały, że 5-FU jest stabilny fotolitycznie, natomiast w warunkach utleniających ulega efektywnemu rozkładowi.

<sup>[1]</sup> T. Kosjek, S. Perko, D. Zigona, E. Heath, *Fluorouracil in the environment: Analysis, occurrence, degradation and transformation*, J. Chromatogr. A, 1290 (2013) 62– 72.

<sup>[2]</sup> J. Zhang, V.W.C. Chang, A. Giannis, J.-Y. Wang, *Removal of cytostatic drugs from aquatic environment: A review*, Sci. Total Environ. 445–446 (2013) 281–298.

## **OCENA ZDOLNOŚCI TWORZENIA BIOFILMU PRZEZ SZCZEPY WYIZOLOWANE Z PRZYDOMOWYCH OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW**

Łukasz Jałowiecki<sup>1\*</sup>, Joanna Żur<sup>2</sup>, Joanna Chojniak<sup>1</sup>, Izabela Biedroń<sup>1</sup>, Grażyna Plaza<sup>1</sup>

1) Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, ul. Kossutha 6, 40-844 Katowice

2) Uniwersytet Śląski, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii,  
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice

email autora do korespondencji\*: [jalowiecki@ietu.katowice.pl](mailto:jalowiecki@ietu.katowice.pl)

Przydomowe oczyszczalnie to zespół urządzeń służących do oczyszczania ścieków z gospodarstw domowych w procesach mechanicznych, biologicznych i chemicznych. Oczyszczone ścieki są odprowadzane do środowiska wodno-gruntowego. Takie miejsca stanowią duży rezerwuár mikroorganizmów, wykazujących zdolność do tworzenia biofilmu (błony biologicznej). Architektura błon biologicznych oraz znaczne zróżnicowanie metaboliczne i genetyczne mikroorganizmów budujących biofilm zwiększa oporność mikroorganizmów na czynniki antybakteryjne oraz odpowiada za zwiększone zdolności biodegradacyjne i sorpcyjne bakterii.

Celem badań była ocena zdolności tworzenia biofilmu przez 30 szczepów bakterii wyizolowanych z przydomowych oczyszczalni ścieków. Szczepy izolowano z surowych i oczyszczonych ścieków z 3 systemów przydomowych oczyszczalni ścieków: technologia A – zbiorniki ze złożem fluidalnym, technologia B - system biofiltrów zrobionych z włókna wełnianego jako absorbent mikroorganizmów, oraz technologia C - system reaktorów z napowietrzaniem. Do oceny intensywności tworzenia biofilmu wykorzystano metodę barwienia fioletem krystalicznym. Dodatkowo, przeprowadzono testy autoagregacji.

Badania wykazały, że większość badanych szczepów posiada zdolność tworzenia biofilmu. 15 spośród analizowanych szczepów zaklasyfikowano do tzw. „silnych producentów” biofilmu (ang. *strong biofilm producer*), 4 - do „średnich producentów” (ang. *moderate biofilm producer*), natomiast 11 - nie wykazywało zdolności tworzenia błony biologicznej.



## WYKORZYSTANIE BIOTECHNOLOGII EKOSYSTEMOWYCH W REDUKCJI ZANIECZYSZCZEŃ OBSZAROWYCH

Paweł Jarosiewicz<sup>1,2\*</sup>, Maciej Zalewski<sup>1,2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Ekologii Stosowanej,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Europejskie Regionalne Centrum Ekohydrologii Polskiej Akademii Nauk, ul. Tylna 3, 90-364 Łódź

*email autora do korespondencji\*: p.jarosiewicz@erce.unesco.lodz.pl*

W ostatnich latach zmienność otaczającego nas środowiska jest kreowana przez postępujące ocieplenie klimatu oraz intensyfikację oddziaływania człowieka. Wyznacznikiem dobrego stanu ekologicznego oraz elementem najszybciej poddającym się zmianom jest środowisko wodne. Wśród podstawowych źródeł zanieczyszczeń wyróżnia się źródła punktowe oraz obszarowe. Duży nacisk położony na rozwój technologii oczyszczania ścieków oraz regulacje dotyczące odprowadzania zanieczyszczeń przemysłowych przyniosły rezultat w postaci ograniczenia ładunków pochodzenia punkowego. Jednakże, m.in. według danych HELCOM zanieczyszczenia obszarowe mogą stanowić ponad 50% ładunku zanieczyszczeń przedostających się do morza Bałtyckiego, dlatego efektywne redukowanie zanieczyszczeń punktowych jest niewystarczające. Szczególnie istotnym źródłem zanieczyszczeń obszarowych w postaci związków biogennych oraz chemicznych środków ochrony roślin jest produkcja żywności. Dlatego niezwykle istotna staje się implementacja rozwiązań naukowych wraz z odpowiednim mechanizmem zarządzania zlewnią.

Wysoką efektywność w redukcji zanieczyszczeń obszarowych stwierdzono m.in. dla stref ekotonowych. Jednakże w wielu przypadkach wykorzystanie jedynie pasma roślinności nie przynosi oczekiwanych efektów. W celu podniesienia wydajności stref buforowych, przy zachowaniu niskiego stosunku poniesionych kosztów do skutecznej redukcji zanieczyszczeń, należy stosować rozwiązania bazujące na podejściu ewolucyjnym. Biotechnologie ekosystemowe pozwalają na podniesienie wydajności ekosystemów przejściowych, zarówno w skali molekularnej jak i populacyjnej.

Poster ma na celu prezentację wybranych zagadnień związanych z podnoszeniem efektywności stref ekotonowych takich jak ściany denitryfikacyjne, bariery biogeochemiczne oraz dobór gatunkowy roślin i odpowiednie zarządzanie zlewnią.

## SZEROKIE SPEKTRUM EKOLOGICZNE GRZYBÓW IZOLOWANYCH Z EKOSYSTEMÓW WODNYCH

Piotr Knysak<sup>\*1</sup>, Izabela Skrobek<sup>2</sup>, Aneta Gwiazda<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Algologii i Mykologii,  
ul. Banacha 12/16, 90-231 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Sekcja Mykologiczno-Algologiczna SKNB,  
ul. Banacha 12/16, 90-231 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [piotrknysak@biol.uni.lodz.pl](mailto:piotrknysak@biol.uni.lodz.pl)

Grzyby mikroskopijne występujące w środowisku wodnym mają często charakter kosmopolityczny, dotyczy to m.in. saprotrofów, których wzrost i rozwój stymulowany jest w największym stopniu przez dużą zawartość związków organicznych. Tego typu zanieczyszczenie obniża jakość oraz status ekologiczny wód, stając się tym samym cennym i łatwo dostępnym źródłem pokarmu dla obecnej w nich mykobioty. Do najczęściej wymienianych przyczyn intensywnego rozprzestrzeniania się mikrogrzybów w ekosystemach wodnych zalicza się zwierzęta związane z wodą, np. ptaki, a także prądy powietrzne oraz zaburzenia antropogeniczne. Grzyby te utożsamia się ze środowiskiem lądowym, a ich występowanie również w środowisku wodnym, w którym stanowią liczną i zróżnicowaną ekologicznie oraz taksonomicznie grupę organizmów, potwierdza ich szerokie spektrum ekologiczne.

Badania hydromykologiczne prowadzone były w okresie od października 2015 roku do lutego 2016 roku, na dwóch wybranych stanowiskach: zbiornik retencyjny Cieszanowice (woj. łódzkie) oraz rezerwat Niebieskie Źródła. Próby pobierane były ze stref brzegowych, raz w miesiącu. Jednocześnie z poborem prób mykologicznych wykonywane były pomiary parametrów fizyko-chemicznych: pH, przewodnictwo właściwe wody, temperatura powietrza oraz wody. Próby przewożone były w atmosferze ochronnej do laboratorium w Katedrze Algologii i Mykologii, UŁ. Do założenia hodowli mikrogrzybów wykorzystano filtrację mikrobiologiczną metodą filtrów membranowych Millipore®, a następnie podłoże stałe Sabourauda.

Wynikiem hodowli była obserwacja i identyfikacja dwóch dominujących w próbach oraz w ekosystemach gatunków grzybów, *Aspergillus niger* Tiegh. oraz *Purpureocillium lilacinum* (Thom) Luangsa-ard, Houbaken, Hywel-Jones & Samson, potencjalnych patogenów dla człowieka. Na podstawie hodowli, oszacowano również liczbę obecnych gatunków grzybów, których dokładna identyfikacja wymaga dalszych badań, zgodnych z procedurami diagnostyki mykologicznej.

**FOTOKATALIZATORY NA BAZIE  $\text{KTaO}_3$  MODYFIKOWANE MONO-  
I BIMETALICZNYMI NANOCZĄSTKAMI Au/Pt WYKAZUJĄCYMI  
PODWYŻSZONĄ AKTYWNOŚĆ W ŚWIETLE VIS I UV**

Anna Krukowska<sup>1\*</sup>, Michał Winiarski<sup>2</sup>, Adriana Zaleska-Medynska<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk

2) Politechnika Gdańska, Wydział Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej,  
ul. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk

email autora do korespondencji\*: [anna.krukowska@phdstud.ug.edu.pl](mailto:anna.krukowska@phdstud.ug.edu.pl)

Półprzewodnik  $\text{KTaO}_3$  ze względu na szeroką przerwę energetyczną (3,42 eV) wykazuje aktywność fotokatalityczną głównie pod wpływem promieniowania z zakresu ultrafioletowego (UV) <sup>[1]</sup>. Nanocząstki metali szlachetnych (NM NPs – ang. *Nanoparticles of Noble Metal*) na powierzchni  $\text{KTaO}_3$  mają zdolność absorpcji promieniowania z zakresu widzialnego (Vis) w wyniku działania efektu powierzchniowego rezonansu plazmonowego (LSPR – ang. *Localized Surface Plasmon Resonance*). Modyfikacja powierzchni fotokatalizatorów  $\text{KTaO}_3$  za pomocą NM NPs zwiększa ich właściwości fotokatalityczne, a tym samym zastosowanie w procesach degradacji zanieczyszczeń wodnych i gazowych, inaktywacji bakterii, fotokonwersji  $\text{CO}_2$  i generowaniu wodoru <sup>[2]</sup>.

Zaprezentowane wyniki badań obejmują preparatykę i charakterystykę fizykochemiczną fotokatalizatorów na bazie  $\text{KTaO}_3$  modyfikowanych nanocząstkami Au, Pt i Au/Pt. Półprzewodnik  $\text{KTaO}_3$  otrzymano metodą hydrotermalną, a następnie na jego powierzchni naniesiono nanocząstki Au, Pt oraz Au/Pt za pomocą fotodepozycji. Analiza SEM i TEM wskazuje, że otrzymane mikrokompozyty posiadają kształt kostki o rozmiarze boku od 0,2 do 1,8  $\mu\text{m}$ , na których powierzchni osadzono nanocząstki Au o średnicy 18 nm i Pt o średnicy 4 nm. Wielkość powierzchni właściwej BET wynosi od 2,2 do 14,2  $\text{m}^2/\text{g}$ . Na widmach rozproszonego odbicia UV-Vis (DRS UV-Vis) próbek Au- $\text{KTaO}_3$  i Au/Pt- $\text{KTaO}_3$  zaobserwowano piki przy długości fali 550 nm, co wskazuje na absorpcję światła widzialnego (efekt LSPR). Poziom dekompozycji fenolu pod wpływem promieniowania Vis i UV w obecności fotokatalizatorów NPs- $\text{KTaO}_3$  jest około 2 razy wyższy w porównaniu do próbki referencyjnej  $\text{KTaO}_3$ .

<sup>[1]</sup> J.W. Liu, G. Chen, Z.H. Li, Z.G. Zhang, Int. J. Hydrogen Energy, 32 (2007) 2269-2272.

<sup>[2]</sup> D. Xu, K. Liu, W. Shi, M. Chen, B. Luo, L. Xiao, W. Gu, Int. Ceramics, 41,(2015) 4444-4451.

## **BIOSURFAKTANTY JAKO DODATKI - NOWE ROZWIĄZANIA W ZAKRESIE OCHRONY ŚRODOWISKA**

Diana Mańko<sup>\*</sup>, Anna Zdziennicka, Bronisław Jańczuk, Diana Rymuszka

*Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Pl. Marii Curie-Skłodowskiej, 20-031 Lublin*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: manko\_diana@interia.pl*

Obecnie surfaktanty wykorzystywane są niemal w każdej dziedzinie życia i działalności człowieka ze względu na ich cenne właściwości użytkowe (myjące, zwilżające, pianotwórcze, solubilizujące, dyspergujące). W praktyce ze względów ekonomicznych najczęściej stosuje się słabo biodegradowalne surfaktanty syntetyczne lub ich mieszaniny. Ogromne ilości tych związków trafiają rokrocznie do środowiska stanowiąc jedno z głównych źródeł jego zanieczyszczeń. Ich ekologicznymi zamiennikami mogą być surfaktanty wytwarzane przez organizmy żywe - biosurfaktanty. Czynnikiem ograniczającym produkcję naturalnych związków powierzchniowo czynnych na szeroką skalę są koszty związane z ich biosyntezą i oczyszczaniem. Korzystnym rozwiązaniem wydaje się stosowanie mieszanin układów surfaktant syntetyczny/biosurfaktant gdyż już niewielki dodatek naturalnego surfaktantu umożliwia uzyskanie korzystnych właściwości technologicznych mieszaniny przy znacznym ograniczeniu ilości związku o niskiej biodegradowalności.

W swoich badaniach opisuję wpływ ramnolipidu, biosurfaktantu stanowiącego wtórny produkt metabolizmu bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, na właściwości powierzchniowe i objętościowe klasycznego niejonowego Tritonu X-100 - surfaktantu powszechnie stosowanego w przemyśle, biologii molekularnej oraz biochemii. W kontekście uzyskanych wyników wyjaśniam zasadność stosowania biosurfaktantów w roli dodatków jako nowe rozwiązanie problemu zanieczyszczenia środowiska przez klasyczne surfaktanty.

**LOKALIZACJA I LICZBA STANOWISK BOBRA EUROPEJSKIEGO *CASTOR FIBER*  
W DOLINIE RZĘKI KRASNEJ NA TERENIE SUCHEDNIOWSKO-OBŁĘGORSKIEGO  
PARKU KRAJOBRAZOWEGO**

Joanna Nowek<sup>\*</sup>, Agnieszka Samolej

*Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, 25-406 Kielce*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: joannanowek@op.pl*

Bobry są największymi przedstawicielami gryzoni zamieszkujących Eurazję. Zawsze wzbudzały zainteresowanie ze względu na ich nocny tryb życia i niezwykle umiejętności konstruktorsko-budowlane. Żyją one w rodzinach zwykle liczących od 4 do 10 osobników i składających się z dwóch dorosłych bobrów oraz ich potomstwa z dwóch ostatnich lat, które w trzecim roku się usamodzielnia. Są to zwierzęta monogamiczne wykazujące silny terytorializm. W dolinie rzeki Krasnej znalazły dogodne warunki siedliskowe, dlatego ich liczebność z roku na rok rośnie. Prowadząc badania wykorzystano wskaźniki populacyjne i siedliskowe stosowane w monitoringu bobra, a także uwzględniono metodykę zaproponowaną przez GDOŚ w ramach projektu krajowej strategii ochrony bobra. Zlokalizowane zostały przy pomocy urządzenia GPS wszystkie stanowiska bobra znajdujące się na rzece Krasna od jej źródeł do miejscowości Krasna oraz na dopływach tej rzeki. Wykonana została dokumentacja fotograficzna żeremi, tam, terenów zalanych w wyniku żerowania bobrów oraz śladów ich bytowania. Przeprowadzono również wywiad społeczny dotyczący występowania bobra na terenach użytkowanych rolniczo.

## STABILNOŚĆ TEMPERATUROWA EMULSJI KOSMETYCZNYCH Z DODATKIEM BIOSURFAKTANTÓW

Diana Rymuszk<sup>\*</sup>, Konrad Terpiłowski, Diana Mańko

*Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej, Zakład Zjawisk Międzyfazowych,  
Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: diana.rymuszka@poczta.umcs.lublin.pl*

Emulsje to układy koloidalne, złożone z co najmniej dwóch faz ciekłych, z których jedna jest zdyspergowana w drugiej w postaci kropeł. Ich stabilność to jeden z podstawowych parametrów mających niebagatelny wpływ na właściwości aplikacyjne produktu kosmetycznego. Emulsje kosmetyczne zwykle stabilizowane są poprzez dodatek emulgatora, którego rolę w większości przypadków pełnią surfaktanty, czyli substancje, które już przy niewielkim stężeniu obniżają napięcie powierzchniowe oraz posiadają zdolność tworzenia miceli.

Produkty kosmetyczne, jak również kompozycje detergentowe, w przypadku których głównym składnikiem aktywnym są surfaktanty syntetyczne, stanowią ogromne zagrożenie dla środowiska naturalnego. Jest to związane ze zdolnością gromadzenia surfaktantów w obszarze międzyfazowym, ułatwiając tym samym przedostawanie do środowiska wodnego wielu substancji toksycznych oraz tendencją do ich kumulacji zarówno w glebie jak i zbiornikach wodnych, co niekorzystnie wpływa na rozwój organizmów żywych.

Ciekawym rozwiązaniem tego problemu wydaje się być zastąpienie surfaktantów syntetycznych, tak zwanymi *biosurfaktantami*, czyli związkami powierzchniowo czynnymi pochodzenia naturalnego, produkowanymi przez szereg mikroorganizmów. Zgodnie z doniesieniami literaturowymi związki powierzchniowo czynne pochodzenia naturalnego charakteryzują się nieznacznym obciążeniem dla środowiska, dobrą biodegradowalnością oraz stosunkowo wysoką efektywnością już przy niskich wartościach krytycznego stężenia micelizacji.

Celem badań było określenie stabilności temperaturowej wzorcowej emulsji kosmetycznej z dodatkiem biosurfaktantów stanowiących alternatywę dla powszechnie wykorzystywanych surfaktantów syntetycznych. Pomiary przeprowadzono przy zastosowaniu aparatu Turbiscan, umożliwiającego określenie właściwości fizykochemicznych układów koloidalnych w szerokim zakresie temperaturowym.

**MOTYLE NOCNE (*MACROLEPIDOPTERA: HETEROCERA*)****REZERWATU RĄBIEŃ**Angelika Zima, Mateusz Plóciennik\*, Robert Sobczyk\**Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Zoologii Bezkręgowców  
i Hydrobiologii, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź**email autora do korespondencji : mplociennik10@hotmail.com, sobos1@vp.pl*

Rezerwat „Torfowisko Rąbień” chroni nieliczne mokradła w granicach aglomeracji łódzkiej. Badania prowadzono w latach 2011-2012: na stanowisku przy ul. Różanej 30B od wiosny 2011 do wiosny 2012 oraz przy ul. Torfowej od wiosny do jesieni 2012. Stwierdzono występowanie 173 gatunków, należących do 11 rodzin. Analizy ordynacyjne wskazują, że do głównych preferowanych przez Macroheterocera rezerwatu siedlisk należą: łągi i olsy, łąki, luźne lasy liściaste oraz ogrody. Wydzielono trzy grupy troficzne: 1, 2 i 3. Gatunki grupy 1 są związane z drzewami liściastymi i ich siedliska znajdują się we wschodniej oraz centralnej części rezerwatu, gdzie dominują podmokłe grądy i bory mieszane. Motyle z grupy 2 są związane troficznie z roślinami zielnymi zbiorowisk łąkowych i synantropijnych. Znajdują się one na obrzeżach rezerwatu, zwłaszcza od strony wschodniej i północnej a także na obszarze silnie zdegradowanymi w południowo-wschodniej części rezerwatu. Gatunki grupy 3 (outgroup) są związane z roślinami obcymi dla siedlisk rezerwatu a także drzewami iglastymi, porostami i glonami. Znajdowały one swoje rośliny żywicielskie głównie w południowej części rezerwatu, gdzie występowały bory mieszane. Najważniejsze rośliny żywicielskie wybierane przez poszczególne grupy troficzne to: dla gatunków z gr. 1 - brzoza oraz dąb, gr. 2 - szczaw i babka zwyczajna, a dla gr. 3 - sosna zwyczajna.

Rezerwat znajduje się pod silną presją człowieka, głównie ze względu na rozwijającą się zabudowę w bezpośrednim jego otoczeniu. Głównie jest to zabudowa jednorodzinna, dlatego z punktu widzenia ochrony motyli ważne jest pozostawienie lasu graniczącego z rezerwatem jako naturalnej otuliny. Istotna jest również odpowiednia kultywacja ogrodów oraz ograniczenie zanieczyszczenia światłem.

## **SURFAKTANTY I ICH WPLYW NA ŚRODOWISKO**

Magdalena Szaniawska\*, Anna Taraba, Katarzyna Szymczyk

*Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej,  
Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin*

*email autora do korespondencji\*: magdalena.szaniawska@wp.pl*

Związki powierzchniowo czynne, inaczej surfaktanty to grupa związków o szerokim zastosowaniu. Dzięki swoim niezwykłym właściwościom surfaktanty znajdują szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach. Są składnikami preparatów czyszczących i piorących, kosmetyków, środków ochrony roślin, leków a nawet produktów spożywczych (np. napojów). Znajdują także zastosowanie w przetwarzaniu makulatury, obróbce tkanin, farb i wyrobów ceramicznych. Ponadto wykorzystywane są w przemyśle motoryzacyjnym, budownictwie i górnictwie.

Syntetyczne związki powierzchniowo czynne są toksyczne, dlatego też już małe ich stężenia powodują nieodwracalne zmiany, zarówno w organizmach żywych, jak i w otaczającym je środowisku. Dlatego też istnieje potrzeba monitorowania zawartości surfaktantów w poszczególnych składnikach środowiska takich jak gleba, wody powierzchniowe czy opady.

Oznaczanie surfaktantów w próbkach środowiskowych wiąże się z wieloma problemami, które wynikają min. ze złożoności składu matrycy próbek środowiskowych, niskich stężeń surfaktantów w próbkach oraz zawartości interferentów, z różnej budowy chemicznej stosowanych związków, czy z amfifilowego charakteru surfaktantów. Dodatkowo procedura poboru próbki ze środowiska, jak również jej przechowywanie ma bardzo duży wpływ na późniejsze oznaczenia.

Celem przeprowadzonych badań była analiza wybranych zagadnień związanych z obecnością i obiegiem surfaktantów w przyrodzie, ich toksycznym wpływem na środowisko, metodami ich oznaczania, usuwania oraz biodegradacji.



**DEPRESJA INBREDOWA A PLOIDALNOŚĆ U ROŚLIN OKRYTONASIENNYCH**

Przemysław Tomczyk\*, Marcin Kiedrzyński, Agnieszka Rewicz

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Geobotaniki i Ekologii Roślin,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: [tomczyk@biol.uni.lodz.pl](mailto:tomczyk@biol.uni.lodz.pl)

Depresja inbredowa jest zjawiskiem obniżenia żywotności i możliwości adaptacyjnych osobników pochodzących z kojarzenia krewniaczego. Jednym z mechanizmów tłumaczących to zjawisko jest częściowa dominacja, która prowadzi do ujawniania się szkodliwych, recesywnych i częściowo recesywnych mutacji w homozygotach. Przyjmuje się również, że organizmy poliploidalne, ze względu na zwielokrotnienie zawartości genomu, powinny w mniejszym stopniu podlegać ww. zjawiskom. Stąd też przesłanka, że małe, izolowane populacje poliploidów powinny być mniej narażone na depresję inbredową niż populacje organizmów diploidalnych. Badania doświadczalne z ostatnich lat zdają się potwierdzać te założenia u roślin okrytonasiennych.

Eksperymenty na gatunkach z rodzaju *Clarkia* wykazały, że poliploidalność była dodatnio skorelowana z większą liczbą kwiatów oraz jedną z dwóch miar kumulatywnego dostosowania <sup>[1]</sup>. Wykazano również, że ważniejszym czynnikiem był tu jednak system kojarzenia.

W przypadku *Epilobium angustifolium* <sup>[2]</sup> system kojarzenia nie odgrywał tak dużej roli, w przeciwieństwie do poziomu ploidalności. Poliploidy wyróżniały się mniejszym poziomem depresji inbredowej na każdym etapie rozwoju. Różnice były istotne dla liczby nasion i kumulatywnego dostosowania; nie zaobserwowano z kolei istotnych statystycznie różnic dla poziomu kiełkowania nasion, przeżywalności i suchej masy roślin. Wyniki innych badań na temat związku depresji inbredowej i ploidalności dowodzą, że:

- wśród okrytonasiennych poliploidów częstsze jest samozapylenie (w porównaniu do diploidalnych bliskich krewnych);
- podłoże genetyczne depresji inbredowej może różnić się u danego osobnika podczas poszczególnych faz rozwoju;
- młode poliploidy wykazują większą odporność na depresję inbredową niż diploidy, natomiast u starych poliploidów sytuacja może być odwrotna.

<sup>[1]</sup> Barringer B.C., Geber M.A., 2008. Mating system and ploidy influence levels of inbreeding depression in *Clarkia* (Onagraceae). *Evolution* 62(5): 1040-51.

<sup>[2]</sup> Husband B.C., Schemske D.W., 1997. The Effect of Inbreeding in Diploid and Tetraploid Populations of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae): Implications for the Genetic Basis of Inbreeding Depression. *Evolution* 51 (3): 737-746.

**ZMIENNA ZIMA W LESIE – NIEOCZEKIWANY RAJ****GRZYBÓW NADRZEWNYCH**

Dorota Wieczorkiewicz<sup>1\*</sup>; Sebastian Piskorski<sup>1</sup>; Małgorzata Ruszkiewicz-Michalska<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Studenckie Koło Naukowe Biologów  
Seksja Mykologiczno-Algologiczna, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Algologii i Mykologii,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: [dwieczorkiewicz@tlen.pl](mailto:dwieczorkiewicz@tlen.pl)

Wstępne badania, prowadzone w okresie od listopada 2015 do lutego 2016 roku nad grzybami nadrzewnymi na terenie Parku Krajobrazowego Wzniesień Łódzkich, podjęto w celu poznania reakcji grzybów na warunki wilgotnościowe i termiczne okresu zimowego. Park ten (pow. 11580 ha) leży w województwie łódzkim, na północny-wschód od Łodzi. Badania terenowe prowadzone były na terenie przylegającym do wsi Kopanki (gmina Nowosolna). Obserwacje nakierowane na gatunki należące do typu *Basidiomycota* prowadzone były metodą marszrutową. Owocniki wstępnie charakteryzowano w terenie, następnie w laboratorium oznaczano do gatunku. Zidentyfikowano 10 tworzących świeże owocniki gatunków nadrzewnych z pięciu rzędów: *Auriculariales*, *Dacrymycetes*, *Polyporales*, *Russulales*, *Tremellales*.

W roku 2015 jesień była wyjątkowo sucha. Ten hipotetycznie najlepszy okres rozwoju owocników i wysypu zarodników podstawkowych grzybów nadrzewnych, okazał się niekorzystny dla ich rozwoju. Wstrzymywały go ciepłe i suche dni. Zima to standardowo okres niskich temperatur, w którym grzyby nadrzewne wstrzymują produkcję mejospor. Zimą 2015/2016 wyjątkowo warunki pogodowe szybko zmieniały się. Ze względu na wysokie temperatury powietrza, często sięgające kilku stopni Celsjusza oraz dość obfite i częste opady, grzyby miały odpowiednie warunki do rozwoju i tworzenia struktur generatywnych. Jednocześnie, pojawiające się sporadycznie niskie temperatury i krótkotrwałe opady śniegu zmuszały grzyby do szybkiego wzrostu owocników. Wskazywały na to ich nietypowe formy (np. u *Daedaleopsis confragosa*), często ograniczone do niemal samego hymenoforu. Obserwacje mikroskopowe wykazały, że zarodniki podstawkowe produkowane były w tych zimowych owocnikach w bardzo małej liczbie, co wskazuje na duże wahania czynników środowiskowych, ale i na strategię życiową tych gatunków. Grzyby nadrzewne, u których dominuje rozmnażanie generatywne, są genialnymi generalistami przystosowującymi się do zmiennych warunków środowiska zimy, wykorzystującymi każdą, 'okazję' do rozprzestrzeniania się.

**SKŁAD CHEMICZNY DREWNA PNIAKÓW SOSNY POSPOLITEJ  
(*PINUS SYLVESTRIS*) NA RÓŻNYCH ETAPACH NATURALNEJ DEGRADACJI**

Adrian Witczak<sup>1\*</sup>, Małgorzata Sławska<sup>1</sup>, Andrzej Radomski<sup>2</sup>

*1) Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Leśny, Katedra Ochrony Lasu i Ekologii,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa*

*2) Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Technologii Drewna, Katedra Nauki  
o Drewnie i Ochrony Drewna, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa*

*email autora do korespondencji\*: [adrian\\_witczak@sggw.pl](mailto:adrian_witczak@sggw.pl)*

Pniaki pozostałe w lesie po ścięciu drzew są cennym substratem pokarmowym dla wielu saprotroficznych mikroorganizmów zaangażowanych w dekompozycję materii organicznej. Rozkład drewna jest wynikiem działania wielu czynników m.in. temperatury, wilgotności, aktywności mikroorganizmów, jednak najistotniejszy wpływ na tempo rozkładu drewna ma kolonizacja drewna przez grzyby. Drewno zawiera 45-50% celulozy. Celuloza w warunkach tlenowych rozkładana jest przez wiele gatunków grzybów oraz bakterie celulolityczne z wytworzeniem wody i dwutlenku węgla. Drewno poza celulozą zawiera inne substancje polisacharydowe, do których należą hemicelulozy. Stanowią one około 20% masy drewna. Lignina jest dość odporna na atak mikroorganizmów, lecz ostatecznie również ulega rozkładowi. Enzymy lignolityczne są syntetyzowane w metabolizmie wtórnym. Podczas początkowej fazy wzrostu grzyba rozkład ligniny nie zachodzi. Dopiero po wyczerpaniu się łatwo dostępnych źródeł pojawiają się jednocześnie: wytwarzanie peroksydaz i alkoholu weratrylowego oraz aktywność lignolityczna. Ligniny są fenolowymi polimerami ściany komórkowej i tworzą drugą najbardziej powszechną grupę, po celulozie, stanowiąc prawie 30% węgla organicznego w biomasie roślinnej.

W niniejszej pracy do analizy pobrano materiał z pniaków w wieku 5, 10, 15, 20, 25 lat, znajdujących się w drzewostanach na siedlisku boru świeżego i lasu świeżego. Próbę kontrolną stanowił materiał pobrany ze świeżych pniaków. Metodami chemicznymi określono zawartość: celulozy, ligniny, holocelulozy i hemiceluloz. Zawartość celulozy, holocelulozy oraz hemiceluloz malała wraz z wiekiem pniaka, natomiast zawartość ligniny relatywnie rosła. Degradacja celulozy i holocelulozy następowała szybciej na żyzniejszym siedlisku. Żyzność siedliska nie miała wpływu na tempo dekompozycji hemiceluloz.

# **STRESZCZENIA**

## **Sesja**

### **Biologia molekularna**

## **MOLEKULARNE PODSTAWY LEKOOPORNOŚCI PRĄTKÓW GRUŹLICY – DLACZEGO POTRZEBUJEMY NOWYCH LEKÓW**

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek i wsp.

*Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk*

WHO szacuje, że około 650 tyś. z 12 mln. (5.4%) zarejestrowanych przypadków gruźlicy w 2010 roku na świecie wywołanych było przez szczepy wielolekooporne (MDR). Współcześnie stosowane, standardowe leczenie gruźlicy, składa się z dwóch faz: fazy intensywnego leczenia przeciwrprątkowego, trwającej 2 miesiące, w której stosowane są jednocześnie cztery leki i fazy leczenia podtrzymującego, trwającej 4 miesiące z zastosowaniem dwóch leków. Leczenie gruźlicy wywołanej przez szczepy MDR opiera się na zastosowaniu leków drugiej linii, często mniej skutecznych, gorzej tolerowanych i wielokrotnie droższych od tych stosowanych w leczeniu standardowym, a wyniki leczenia są kilkadziesiąt razy gorsze z wysokim współczynnikiem śmiertelności (50-80%) w ciągu 4 miesięcy od diagnozy i z dwukrotnie większym ryzykiem nawrotu choroby po zakończonej kuracji w porównaniu z leczeniem gruźlicy lekowrażliwej. Jeszcze większy problem stanowi gruźlica wywołana przez szczepy charakteryzujące się rozszerzoną opornością na leki (XDR). Szczepy te są odporne na izoniazyd i rifampicynę oraz fluorochinolony i co najmniej jeden z trzech leków drugiej linii (kapreomycyna, kanamycyna lub amikacyna). WHO szacuje, że stanowią one około 7% szczepów MDR, a gruźlica przez nie wywołwana jest praktycznie nieuleczalna.

Mykobakterie są naturalnie odporne na wiele antybiotyków, co spowodowane jest wysoką hydrofobowością ściany komórkowej, działającej jako skuteczna bariera przepuszczalności. Prątki mogą nabywać oporność poprzez mutacje pojawiające się w genach chromosomalnych na skutek nieodpowiedniej terapii, niewłaściwego przyjmowania leków, zaniedbań, złego dawkowania czy słabego wchłaniania leków. Punktowe mutacje i/lub delecje związane z lekoopornością prątków zostały zidentyfikowane dla wszystkich leków pierwszej linii. Oporność prątków na leki generowana jest przez akumulacje mutacji w genach kodujących miejsca docelowe dla stosowanych leków oraz mutacji w genach kodujących enzymy aktywujące leki. Oporność wielolekowa to suma mutacji odpowiedzialnych za oporność na poszczególne tuberkulostatyki. W organizmie gospodarza prątki utrzymują się przez lata w stanie latencji co objawia się między innymi fenotypową opornością na niektóre tuberkulostatyki.

Podczas wykładu dyskutowane będzie molekularne podłoże wielolekooporności prątków gruźlicy znajdujących się w fazie aktywnego wzrostu oraz w formie utajonej oraz poszukiwania nowych tuberkulostatyków i nowych miejsc docelowych dla leków przeciwrgruźliczych.

**(p)ppNPP – NIETYPOWE NUKLEOTYDY I ICH HYDROLIZA**

Małgorzata Bohdanowicz<sup>\*</sup>, Katarzyna Potrykus

*Uniwersytet Gdański, Katedra Biologii Molekularnej, ul. Wita Stwosza 59, 80-308 Gdańsk*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: malgorzata.bohdanowicz@phdstud.ug.edu.pl*

Podstawowymi elementami budującymi kwasy nukleinowe (DNA i RNA) każdego organizmu są nukleotydy. Oprócz podstawowych trifosforanów nukleozydów obecnych w komórce znane są również tetra- i pentaosforany nukleozydów, takie jak: 5'-difosforan-3'-difosforan guanozyny (ppGpp) i 5'-trifosforan-3'-difosforan guanozyny (pppGpp), wspólnie nazywane (p)ppGpp. Oba te nietypowe nukleotydy są uważane za alarmy bakteryjnej odpowiedzi ścisłej.

Obecne w komórce bakteryjnej enzymy: RelA i SpoT lub RSH przeprowadzają specyficzną fosforylację GDP lub GTP z udziałem ATP i syntetyzują odpowiednio ppGpp i pppGpp. Enzymy SpoT oraz RSH poprzez degradację (p)ppGpp regulują jego poziom w komórce. Hydroliza alarmonów ma ogromne znaczenie dla komórki bakterii, gdyż pozwala na efektywne przestawienie ich metabolizmu, tak by jak najlepiej wykorzystać nowe zasoby środowiska.

W ostatnich latach wielkim przełomem było odkrycie w organizmach wielokomórkowych takich jak człowiek, enzymu degradującego (p)ppGpp – Mesh-1. Białko to jest ortologiem bakteryjnego białka SpoT i posiada jedynie aktywność hydrolazy (p)ppGpp.

Niektóre bakterie, takie jak *Methylobacterium extorquens* AM1 i *Methylobacterium extorquens* DM4 zawierają homologi białka Mesh-1. Porównano aktywność hydrolityczną tych białek względem (p)ppApp i (p)ppGpp z aktywnością homologów występujących w organizmach wielokomórkowych. Badania sugerują, że enzymy typu Mesh-1 pochodzenia bakteryjnego są specyficzne względem jednego rodzaju nietypowego nukleotydu i różnią się kinetyką ich działania.

## **WYKORZYSTANIE METODY FLOTACJI W BADANIU ODDZIAŁYWAŃ KWASU FOSFATYDOWEGO Z BIAŁKAMI NA PRZYKŁADZIE SYNDAPINY**

Magda Chmielewska\*, Jolanta Zegarlińska, Aleksander F. Sikorski, Aleksander Czogalla

*Uniwersytet Wrocławski, Wydział Biotechnologii, ul. Fryderyka Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław*

*email autora do korespondencji\*: magda.chmielewska@uwr.edu.pl*

Kwas fosfatydowy (PA) jest najprostszym di-acylo glicerofosfolipidem. Ilościowo, w błonie komórkowej, nie przekracza kilku procent molowych, co czyni go jednym z najmniej rozpowszechnionych fosfolipidów. Jednakże, kwas fosfatydowy posiada niepodważalny wpływ na wiele procesów komórkowych, ponieważ jest centralnym punktem w wielu szlakach sygnałowych. Jest partnerem molekularnym wielu białek, do których między innymi należy syndapina - przedmiot badań. Mechanizm interakcji pomiędzy kwasem fosfatydowym, a jego partnerami nie jest jeszcze całkowicie poznany. Ponadto, istnieją przesłanki świadczące o wpływie cholesterolu w bliskim sąsiedztwie, na indukcję oddziaływania białko-PA.

W proponowanym referacie zostanie zaprezentowana metoda oceny wpływu obecności cholesterolu na oddziaływanie syndapiny z kwasem fosfatydowym. Wykorzystana technika flotacji opiera się na wirowaniu w gradiencie gęstości mieszaniny białka z liposomami, spełniających rolę modelu dwuwarstwy lipidowej. Eksperyment został przeprowadzony na różnych mieszkach liposomowych, zawierających lipidy, które wykazywały lub nie wykazywały właściwości wiążące z badanym białkiem oraz na mieszkach z cholesterolem. Dodatkowo, zostanie zaprezentowana optymalizacja przedstawionej metody.

*Praca naukowa finansowana w ramach programu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego pod nazwą „Juventus Plus” w latach 2015 – 2016 nr projektu IP2014 007373.*

**WPLYW HIPERGLIKEMII NA EKSPRESJĘ p53 I ZMIANY MORFOLOGICZNE  
W PROCESIE RÓŻNICOWANIA I DOJRZEWANIA  
LUDZKICH ADIPOCYTÓW WISCERALNYCH**

Marta Kasińska<sup>1\*</sup>, Agnieszka Śliwińska<sup>1</sup>, Marzena Szwed<sup>2</sup>, Ireneusz Majsterek<sup>3</sup>, Józef Drzewoski<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Farmakologii Klinicznej,  
ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

3) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej, pl. Hallera 1, 90-647 Łódź

email autora do korespondencji\*: [martakasinska@o2.pl](mailto:martakasinska@o2.pl)

Uważa się, że wisceralna tkanka tłuszczowa odgrywa dużą rolę w powstawaniu otyłości brzusznej i rozwoju chorób metabolicznych, w tym cukrzycy typu 2 (T2DM). Najnowsze badania wykazały, że czynnik transkrypcyjny p53 odgrywa istotną rolę w rozwoju otyłości i cukrzycy poprzez regulację ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm, proces zapalny, kontrolę cyklu komórkowego i apoptozę.

Celem pracy było określenie wpływu hiperglikemii na ekspresję p53 i zmiany morfologiczne w ludzkich adipocytach wisceralnych (HPA-v) hodowanych w warunkach hiper- i normoglikemii.

Hodowla komórek w hiper- i normoglikemii prowadzona była w trzech etapach: (I) preadipocyty – 5 dni, (II) różnicowanie – 12 dni, (III) dojrzałe adipocyty – 6 dni. Do oceny zmian morfologicznych wykorzystano mikroskopię fluorescencyjną (BODIPY 505/515). Poziom ekspresji p53 oceniano metodą Real-time PCR.

Poziom ekspresji p53 zwiększył się w adipocytach hodowanych w warunkach hiperglikemii względem normoglikemii. W warunkach hiperglikemii zaobserwowano również nasilenie i przyspieszenie różnicowania i dojrzewania preadipocytów wisceralnych (wzrost liczby i zwiększenie rozmiaru kropeł tłuszczu).

Uzyskane wyniki sugerują asocjację przewlekłej hiperglikemii (T2DM) z otyłością i z poziomem p53.



## WPLYW EKSPRESJI KONEKSYNY 43 W LUDZKICH KOMÓRKACH MIOGENNYCH NA POZIOM ZJAWISK ARYTMOGENNYCH MODELU SZCZURA POZAWAŁOWEGO

Anna Rugowska<sup>1\*</sup>, Bartosz Wiernicki<sup>1</sup>, Tomasz Kolanowski<sup>1</sup>, Agnieszka Zimna, Natalia Rozwadowska<sup>1</sup>, Michał Mączewski<sup>2</sup>, Urszula Mackiewicz<sup>2</sup>, Wojciech Łabędź<sup>3</sup>, Tomasz Trzeciak<sup>3</sup>, Jacek Kaczmarczyk<sup>3</sup>, Maciej Kurpisz<sup>1</sup>

1) Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

2) Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, ul. Marymoncka 99/103, 01-813 Warszawa

3) Klinika Ortopedii i Traumatologii, Ortopedyczno – Rehabilitacyjny Szpital Kliniczny im. W. Dęgi UM w Poznaniu, ul. 28 Czerwca 1956r. nr 135/14, 61-545 Poznań

email autora do korespondencji\*: rugowska@man.pzonan.pl

Zawał mięśnia sercowego (ang. *myocardial infarction*) jest jedną z postaci choroby układu sercowo-naczyniowego i stanowi najczęstszą przyczynę śmierci w krajach wysoko rozwiniętych. Niedokrwienie powstałe na skutek niedrożności tętnicy wieńcowej doprowadzającej krew do jego obszarów jest przyczyną zawału serca. Po zawale obumarłe kardiomiocyty zastępowane są przez komórki tkanki łącznej oraz tkankę włóknistą, co powoduje usztywnienie ściany lewej komory serca i pogorszenie jego funkcji.

Nadzieje na efektywne leczenie uszkodzonego miokardium oferują nowe terapie na bazie komórek macierzystych. W medycynie regeneracyjnej wykorzystywane są m.in. mioblasty, będące prekursorami komórek pochodzenia miogennego. Posiadają one wiele zalet, jednak głównym problemem związanym z ich zastosowaniem w regeneracji nieodwracalnie uszkodzonego miokardium jest ich niepełna synchronizacja elektrofizjologiczna jak i strukturalna z kardiomiocytami biorczymi.

Celem projektu była ocena wpływu przeprowadzonej modyfikacji genetycznej mioblastów genem *GJA1* odpowiedzialnym za powstanie połączeń typu szczelinowego na arytmogenność mioblastów w kontekście ich roli regeneracyjnej wobec pozawałowego mięśnia sercowego w modelu szczura Wistar.

W celu weryfikacji eliminacji pro-arytmogennych właściwości ludzkich mioblastów wykazujących nadekspresję koneksyny 43. u szczura został wywołany zawał mięśnia sercowego. Po zabiegu zwierzęta wylosowano w trzech grupach: (i) grupę kontrolną z podanymi natywnymi mioblastami, (ii) grupę kontrolną z podanym 0,9% roztworem NaCl, (iii) grupę po interwencji mioblastami z badanym genem. Wszczepiono podskórnie szczurom nadajniki telemetryczne, które pozwoliły na stałą obserwację pracy serca poprzez badanie EKG i tym samym na identyfikację dodatkowych pobudzeń wtórnych typu komorowego w mięśniu sercowym.

Analiza wyników wykazała, że zastosowana modyfikacja genetyczna mioblastów - z nadekspresją białka koneksyny 43, pomniejszyła zjawisko występowania dodatkowych pobudzeń serca w porównaniu ze szczurami z grupy kontrolnej (po zawale).

Finansowanie GRANT PRELUDIUM nr: 2012/07/N/NZ4/02117.

## OCENA EKSPRESJI GENU KODUJĄCEGO OSTEOKALCYNĘ W ADSC RÓŻNICOWANYCH W KIERUNKU KOMÓREK TKANKI KOSTNEJ

Aleksandra Skubis<sup>1\*</sup>, Bartosz Sikora<sup>1</sup>, Małgorzata Kimsa<sup>2</sup>, Urszula Mazurek<sup>1</sup>

1) Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec

2) Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Lekarski w Katowicach, Katedra i Zakład Biochemii, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

email autora do korespondencji\*: [aleksandra.skubis@gmail.com](mailto:aleksandra.skubis@gmail.com)

Komórki macierzyste (SC, ang. *stem cells*) są to komórki posiadające zdolność nieograniczonych podziałów. Komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej (ADSC ang. *Adipose derived stem cells*) dzięki swoim właściwościom, tj. zdolności różnicowania w kierunku komórek mezodermy (adipocyty, chondrocyty i osteocyty), wiąże się z wielkimi nadziejami w medycynie regeneracyjnej. Komórki macierzyste różnicowane w osteocyty mogą zostać wykorzystane w regeneracji uszkodzeń kości powstających w wyniku urazów mechanicznych, przerzutów oraz trudno gojących się złamań u osób z obniżonym potencjałem regeneracyjnym ze względu na wiek, między innymi u kobiet w okresie menopauzalnym lub osób z chorobami metabolicznymi.

Genem aktywowanym na wczesnym etapie różnicowania się komórek macierzystych w kierunku tkanki kostnej jest BGLAP kodujący osteokalcynę. Osteokalcyna (OC) jest jednym z głównych markerów obrotu kostnego. Produkowana przez osteoblasty występuje tylko w tkance kostnej i zębinie. Synteza osteokalcyny zależna jest od witaminy K, która niezbędna jest do karboksylacji reszt N-glutaminowych do karboksylglutaminianów. Uważana jest za marker kościotworzenia.

W doświadczeniu wykorzystano ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej (ADSC, ang. *Adipose-Derived Stem Cells*, PT-5006, Lonza, Szwajcaria). Do różnicowania wykorzystano deksametazon, kwas askorbinowy i  $\beta$ -glicerolofosforan. Identyfikacja markerów komórek tkanki kostnej, może być przeprowadzana z wykorzystaniem techniki ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją (Q RT-PCR, ang. *Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*). Przy użyciu techniki Q RT-PCR analizowany może być zarówno poziom ekspresji mRNA charakterystycznych markerów.

**ROLA METYLOTRANSFERAZY HISTONÓW G9a W REGULACJI CYKLU****KOMÓRKOWEGO ŚRÓDBŁONKA MIKROWASKULARNEGO HMEC-1**

Martyna Wojtala<sup>1\*</sup>, Dorota Rybaczek<sup>2</sup>, Ewa Macierzyńska-Piotrowska<sup>3</sup>, Katarzyna Borkowska<sup>1</sup>, Agnieszka Gajewska<sup>1</sup>, Aneta Balcerczyk<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytofizjologii,  
ul. Pomorska 141/143, 90-239 Łódź

3) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Katedra i Zakład Biofizyki Molekularnej i Medycznej,  
ul. Mazowiecka 6/8, 92-215 Łódź

email autora do korespondencji\*: mwojtala@biol.uni.lodz.pl

Metylotransferaza histonów G9a, będąca katalizatorem metylacji lizyny 9 i 27 histonu 3 (H3K9me1/me2, H3K27me1/me2), jest znana przede wszystkim jako represor transkrypcji wielu genów. Dzięki temu odgrywa kluczową rolę w regulacji metabolizmu i funkcjonowaniu organizmu, począwszy od etapu embriogenezy. Analizy spektrum substratowego G9a wskazują, iż białko to nie ogranicza się jedynie do metylacji histonów, a swym działaniem obejmuje także p53, CDYL1 czy reptynę [Kim i wsp., 2015; *NAR* 43(7):3509-23; Shankar i wsp., 2013; *Epigenetics* 8(1):16-22].

Jakkolwiek wpływ metylotransferazy G9a na proliferację i różnicowanie komórek został wykazany [Zhang i wsp., 2014; *Oncotarget*: 6(5): 1900-19], ciągle istnieje szereg niewiadomych, będących przedmiotem prezentowanych badań, w zakresie molekularnego mechanizmu regulacji podziału komórki, warunkowanego aktywnością G9a. Jako model badawczy wykorzystano komórki śródbłónka mikrowaskularnego, HMEC-1 (ang. *Human Microvascular Endothelial Cells-1*). Badania przeprowadzone z użyciem inhibitorów G9a: BIX-01294 i chaetocyny, wykazały iż zahamowanie aktywności G9a prowadzi do zablokowania cyklu komórkowego w fazie G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, na poziomie mRNA objawiające się wzrostem ekspresji p21 i Rb. Wyniki tych badań potwierdzono na HMEC-1 z wyciszoną, działaniem shRNA, ekspresją G9a. Immunocytochemiczna analiza aktywności kinazy serynowo-treoninowej (Chk1) pokazała obecność aktywnej, ufosforylowanej formy (Chk1 p-S317) na terenie jądra komórkowego, wskazując, iż zablokowanie cyklu komórkowego, G9a-zależne, odbywa się za pośrednictwem ww. kinazy. Z biochemicznego punktu widzenia, stwierdzono również nie pozostające bez znaczenia na intensywność proliferacji, zmiany w parametrach homeostazy redoks, m.in. obniżenie produkcji RFT, wzrost całkowitej zdolności antyoksydacyjnej komórki, jak i ekspresji katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej.

Prezentowane badania zostały sfinansowane przez Narodowe Centrum Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu Juventus Plus IP2012 039072.

**MARKERY EPIGENETYCZNE W DIAGNOSTYCE ONKOLOGICZNEJ**

Nikoła Zmarzły\*, Emilia Wojdas, Benjamin Grabarek, Urszula Mazurek

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny  
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec*

*email autora do korespondencji\*: nikola.zmarzly@gmail.com*

Choroby nowotworowe są obecnie drugą przyczyną zgonów na świecie tuż po chorobach układu krążenia. Raporty Światowej Organizacji Zdrowia zwracają uwagę na systematyczny wzrost nowych przypadków zachorowań i szacują, że w 2035 roku u 25 milionów osób na świecie zostanie zdiagnozowany nowotwór. Te niepokojące dane skłaniają badaczy do poszukiwania nowych metod wczesnego wykrywania chorób nowotworowych oraz udoskonalania metod już istniejących.

Modyfikacje epigenetyczne odpowiedzialne są za modulację ekspresji genów bez ingerencji w sekwencję nukleotydową. Obserwowane zmiany aktywności transkrypcyjnej genów w nowotworowo zmienionych tkankach w porównaniu do tkanki prawidłowej, bardzo często są wynikiem metylacji DNA w obrębie sekwencji promotorowych tych genów. Modyfikacja ta poprzez przyłączenie grup metylowych do cytozyn wysp CpG skutkuje wyciszeniem aktywności transkrypcyjnej genu, co w przypadku genów supresorowych objawia się zaburzeniami cyklu komórkowego, nadmierną proliferacją i destabilizacją procesów naprawczych.

Ocena profilu metylacji genów markerowych pozwala na rozróżnienie typów i podtypów nowotworów, a także umożliwia ich wczesną diagnozę, gdyż zmiany we wzorze metylacji możliwe są do wykrycia dużo wcześniej niż pierwsze zmiany patologiczne w obrębie tkanek. Dalsze badania nad modyfikacjami epigenetycznymi w nowotworach pozwolą na wyselekcjonowanie nowych, specyficznych markerów, a także umożliwią lepsze poznanie i zrozumienie mechanizmów indukcji i progresji nowotworów, co może również przyczynić się do rozwoju medycyny spersonalizowanej. Dzięki temu możliwe będzie zastosowanie u pacjenta optymalnego leczenia na podstawie indywidualnej charakterystyki molekularnej, a także profilaktyki w przypadku, gdy ujawnione zostaną skłonności do zapadania na niektóre choroby, jeszcze zanim pojawią się symptomy.

**ANALIZA TEMPA WZROSTU ORAZ PRZEŻYWALNOŚCI UKIERUNKOWANEGO  
MUTANTA  $\Delta rv0260c$  *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***

Magdalena Antczak<sup>1,2\*</sup>, Renata Płocińska<sup>1</sup>, Jarosław Dziadek<sup>1</sup>

1) Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, Laboratorium Genetyki i Fizjologii *Mycobacterium*,  
ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: mantczak@cbm.pan.pl

*Mycobacterium tuberculosis* jest czynnikiem etiologicznym gruźlicy, niebezpiecznej choroby zakaźnej, która każdego roku na całym świecie jest przyczyną około dwóch milionów zgonów. Mała efektywność klasycznej terapii gruźlicy oraz narastająca lekooporność prątków skłania zatem do opracowania nowych schematów leczenia, bądź rozszerzenia tych stosowanych obecnie. Wiadomo, że w przystosowaniu patogenu do różnorodnych warunków środowiska biorą udział dwuskładnikowe systemy transdukcji sygnału. Jednym z białek uczestniczących w takim przekazywaniu sygnału jest produkt genu *rv0260c*, który może stanowić potencjalną „tarczę” dla nowych leków.

Aby zbadać czy obecność genu *rv0260c* ma wpływ na tempo wzrostu oraz przeżywalność prątków gruźlicy, na podstawie protokołu Parish i Stoker (2000) skonstruowany został mutant pozbawiony funkcjonalnej wersji genu. Analiza mutantu, jak i szczepu dzikiego *M. tuberculosis* (H37Rv) była prowadzona poprzez hodowlę badanych szczepów w podłożu 7H9/OADC oraz w podłożu z dodatkiem DATA-NO zapewniającym obecność reaktywnych form azotu. Tempo wzrostu bakterii oceniono poprzez pomiar gęstości optycznej przy długości fali 600 nm natomiast przeżywalność szczepów określono techniką CFU (colony forming unit). Mutant  $\Delta rv0260c$  wykazał nieco słabsze tempo wzrostu oraz niższą przeżywalność w stosunku do szczepu H37Rv zarówno w podłożu 7H9/OADC jak również w hodowli zawierającej reaktywne formy azotu.

## BIAŁKO CCDC113 LOKALIZUJE SIĘ W RZĘSKACH I JEST NIEZBĘDNE DO PRAWIDŁOWEGO RUCHU RZĘSEK

Rafał Bazan<sup>\*</sup>, Ewa Wacławek, Paulina Urbańska, Ewa Joachimiak, Dorota Włoga

*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk,  
Laboratorium Cytoszkieletu i Biologii Rzęsek, ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: r.bazan@nencki.gov.pl*

Rzęski to zachowane w toku ewolucji organella pełniące zarówno funkcje sensoryczne jak i ruchowe. Zasadniczo wyróżnia się dwa typy rzęsek: nieruchome rzęski pierwotne, funkcjonujące jako anteny odbierające sygnały ze środowiska i przekazujące je do wnętrza komórki oraz rzęski ruchome umożliwiające poruszanie się pojedynczych komórek lub przesuwanie się drobin wzdłuż powierzchni orzęsionych komórek nabłonka wyścielającego np. drogi oddechowe. Szkielet rzęsek zbudowany jest z 9 par mikrotubul obwodowych oraz, w rzęskach ruchomych dodatkowo z pary mikrotubul centralnych oraz makrokompleksów rozmieszczonych okresowo wzdłuż mikrotubul, takich jak ramiona dyneinowe, szprychy promieniste lub połączenia neksynowe. Brak lub dysfunkcja rzęsek ruchomych powoduje pierwotną dyskinezę rzęsek objawiającą się chronicznymi chorobami górnych dróg oddechowych, bezpłodnością mężczyzn i kobiet oraz odwróceniem trzewi (*situs inversus*). W oparciu o analizy genomowe i proteomiczne szacuje się, że rzęski zbudowane są z około 600-800 białek, przy czym funkcja większości z nich nie jest znana lub w pełni poznana.

Nasze badania wykazały, że białko CCDC113p (ang. *coiled-coil domain containing*) jest nowym białkiem rzęskowym, niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania rzęsek. Białko CCDC113p jest zachowane w toku ewolucji od pierwotniaków do człowieka. W komórkach modelowego organizmu, orzęska *Tetrahymena thermophila*, białko CCDC113 poddane ekspresji jako białko fuzyjne z dołączoną na końcu karboksylowym etykietką HA (CCDC113p-HA) lokalizuje się w rzęskach. W porównaniu z komórkami szczepu dzikiego, mutanty *Tetrahymena* z usuniętym genem kodującym białko CCDC113p, pływają znacznie wolniej niż komórki szczepu dzikiego, mają zmienione trajektorie ruchu oraz wzór bicia rzęsek. Badania immunofluorescencyjne wykazały, że liczba i długość rzęsek w komórkach mutantów pozbawionych białka CCDC113p i komórkach kontrolnych jest podobna. Również tempo regeneracji rzęsek jest zbliżone. Podsumowując, zebrane dane sugerują, że białko CCDC113 jest zaangażowane w regulację ruchu rzęsek u orzęska *Tetrahymena*.

## **CHOROBY W PRADZIEJACH – NOWE TECHNIKI I MOŻLIWOŚCI BADAŃ WSPÓŁCZESNEJ PALEOPATOLOGII**

Paulina Borówka<sup>1,2\*</sup>, Dominik Strapagiel<sup>2</sup>, Wiesław Lorkiewicz<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Antropologii,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Katedra Biofizyki Molekularnej, Pracownia  
Biobank, ul. Piłarskiego 14/16, 90-231 Łódź

email autora do korespondencji\*: pborowka@biol.uni.lodz.pl

Geneza i ewolucja chorób nękających ludzkość od początków jej historii zawsze były przedmiotem zainteresowania badaczy reprezentujących zarówno nauki biologiczne (antropologia, medycyna, mikrobiologia) jak i humanistyczne (historia, archeologia). Szczególną uwagę poświęca się obecnie chorobom zakaźnym, które wraz z rozwojem cywilizacji i wzrostem demograficznym dziesiątkowały populacje ludzkie przyjmując formy epidemii i pandemii, będąc w przeszłości silnym czynnikiem selekcyjnym. Tradycyjnie ocena stanu biologicznego dawnych populacji opiera się na analizie antropologicznej i paleopatologicznej szkieletów ludzkich, dających obraz występowania schorzeń (zmiany chorobowe szkieletu) oraz ich potencjalnego wpływu na populację (mierniki i struktura wymieralności). Rozwój technik biologii molekularnej w ostatnim trzydziestoleciu, począwszy od reakcji PCR, do sekwencjonowania nowej generacji (NGS) pozwala nie tylko na walidację danych antropologicznych i historycznych, ale także otwiera nowe perspektywy detekcji chorób genetycznych nie dających zmian w układzie kostnym, wyjaśniania procesów wymieralności w dawnych populacjach ludzkich, a także odtwarzania procesu koewolucji patogen-gospodarz.

Niniejsza praca ma na celu przedstawienie problematyki pracy z materiałem kopalnym oraz podsumowanie najbardziej popularnych technik z zakresu biologii molekularnej stosowanych do oceny kondycji biologicznej wybranych populacji pradziejowych na przykładzie osobnika reprezentującego jedną z neolitycznych kultur grupy brzesko-kujawskiej.

## WPLYW KOMBINACJI WP 631 I EPOTILONU B NA CYKL KOMÓRKOWY KOMÓREK RAKA PIERSI

Barbara Bukowska<sup>\*</sup>, Aneta Rogalska, Agnieszka Marczak

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: barbara.bukowska@onet.pl*

Nowotwór piersi jest najczęściej występującą wśród kobiet chorobą nowotworową. Z tego względu wciąż poszukuje się nowych rozwiązań terapeutycznych, cechujących się większą efektywnością i mniejszą toksycznością ogólną niż te obecnie stosowane. Obiecująca wydaje się kombinacja dwóch nowych związków: WP 631 i epotilonu B (Epo B).

Metody: Przeanalizowano wpływ powyższych związków na przebieg cyklu komórkowego. Porównywano rozkład faz cyklu po działaniu pojedynczych związków i podanych łącznie. Liczbę komórek w poszczególnych fazach cyklu szacowano na podstawie zawartości DNA, przy wykorzystaniu cytometru przepływowego.

Wyniki: Zaobserwowano że Epo B (10 nM) powodował wzrost liczby komórek w fazie G2/M. Kombinacja związków (Epo B + WP 631; 5 nM + 5 nM) także prowadziła do zatrzymania cyklu komórkowego, niemniej jednak odsetek komórek znajdujących się w fazie G2/M był niższy niż w przypadku działania Epo B. Po działaniu kombinacji odnotowano także wyraźny wzrost puli komórek w fazie sub-G1. WP 631 (10 nM) nie wywoływał zmian w przebiegu cyklu komórkowego. Dodatkowych danych dostarczyły eksperymenty z wykorzystaniem inhibitorów białek zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego. Zahamowanie aktywności EpCAM i HMGB1 odpowiednio przez DAPT i metforminę nie wpływało na działanie żadnego z zastosowanych związków. Natomiast preinkubacja z alsterpaullone, inhibitorem kompleksu CDK1/cykлина B, a następnie właściwa inkubacja z Epo B prowadziła do znaczącego spadku odsetka komórek w fazie G2/M. Obserwacji tej nie potwierdzono dla kombinacji związków.

Wnioski: Epo B zatrzymuje cykl komórkowy w komórkach MCF-7. Zahamowanie kompleksu CDK1/cykлина B zmniejsza aktywność Epo B, co świadczy o tym, że oddziałuje on poprzez ten kompleks białkowy. Pod wpływem działania kombinacji związków komórki wychodzą z bloku G2/M (tzw. *mitotic slippage*). Jest to cenna obserwacja, gdyż o ile zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G2/M w komórkach traktowanych Epo B może zostać cofnięte po naprawie uszkodzeń DNA, to apoptoza występująca po wyjściu komórek z bloku G2/M, co odnotowano po podaniu kombinacji związków, jest nieodwracalna. To może wyjaśniać dlaczego kombinacja WP 631 + Epo B wykazuje silniejsze działanie w komórkach raka piersi, w porównaniu do związków stosowanych osobno.



**WPLYW WYCISZENIA EKSPRESJI GENU KODUJĄCEGO O-GLcNAc  
TRANSFERAZĘ NA EKSPRESJĘ RECEPTORÓW DLA STEROIDÓW  
W KOMÓRKACH RAKA PIERSI**

Piotr Ciesielski<sup>\*</sup>, Monika Klepczarek, Ewa Forma

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytobiochemii,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [piotrcie@biol.uni.lodz.pl](mailto:piotrcie@biol.uni.lodz.pl)

O-GlcNAcyłacja jest powszechną modyfikacją białek jądrowych i cytoplazmatycznych, polegająca na przyłączeniu pojedynczych reszt  $\beta$ -N-acetylo-D-glukozaminy do reszt seryny lub treoniny polipeptydu wiązaniem O-glikozydowym (O-GlcNAc). Enzymem odpowiedzialnym za katalityczne przyłączenie reszt O-GlcNAc jest  $\beta$ -N-acetyloglukozaminyłotransferaza (O-GlcNAc transferaza, OGT). Proces O-GlcNAcyłacji zachodzący w cytozolu jest istotny z punktu widzenia transmisji sygnału komórkowego, natomiast przyłączanie reszt O-GlcNAc na terenie jądra komórkowego wpływa na proces transkrypcji.

W nowotworzeniu piersi obserwuje się często zaburzenia w ekspresji receptorów hormonów steroidowych ER $\alpha$  (receptor estrogenowy) i AR (receptor androgenowy), a także innych receptorów, tj. EGFR (receptor naskórkowego czynnika wzrostu) i HER2 (receptor naskórkowego czynnika wzrostu). Wyniki szeregu badań sugerują, że OGT przez regulację ekspresji czynników transkrypcyjnych może wpływać na poziom ekspresji różnych białek. Interesujące dla nas było to, czy wyciszenie genu *OGT* może mieć wpływ na ekspresję wyżej wymienionych receptorów. W związku z tym celem naszych badań była ocena wpływu obniżonej ekspresji genu kodującego O-GlcNAc transferazę w komórkach raka piersi linii MCF-7 na ekspresję genów *ESR1* (ER $\alpha$ ), *AR*, *EGFR* oraz *HER2*. Ekspresję badanych genów analizowano na poziomie mRNA techniką Real Time PCR z użyciem sond fluorescencyjnych TaqMan®. Przeprowadzone badania wykazały wzrost ekspresji genów *ESR1* i *AR* po wyciszeniu ekspresji genu *OGT*, natomiast w przypadku genów *EGFR* i *HER2* stwierdzono spadek ich ekspresji. Uzyskane wyniki sugerują, że OGT może odgrywać ważną rolę w transformacji nowotworowej piersi.

## **OCENA ODDZIAŁYWANIA TETRABROMOBISFENOLU A NA HEMOLIZĘ ORAZ UTLENIANIE HEMOGLOBINY ERYTROCYTÓW CZŁOWIEKA**

Monika Cyrkler<sup>\*</sup>, Bożena Bukowska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki i Skażeń Środowiska,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: mcyrkler@biol.uni.lodz.pl*

Tetrabromobisfenol A (TBBPA) to związek należący do grupy niepalniących związków na bazie bromu. Wśród nich stosowany jest na największą skalę w celu zwiększenia ognioodporności materiałów polimerowych lub zmodyfikowania ich zachowania w płomieniu. Oszacowano, że roczna produkcja tego związku w 2004 roku osiągnęła wartość około 170 tysięcy ton. TBBPA znalazł zastosowanie głównie przy produkcji żywic epoksydowych i tworzyw poliwęglanowych wykorzystywanych w wielu gałęziach przemysłu takich jak elektrotechnika, elektronika, budownictwo, telekomunikacja, transport i inne. Powszechne zastosowanie, zanieczyszczenie środowiska i żywności oraz częsty kontakt z materiałami wykonanymi z tworzyw poliwęglanowych i żywic epoksydowych spowodował narażenie populacji ludzkiej na TBBPA. Istnieją przypuszczenia, że związek ten może charakteryzować się potencjalnie niekorzystnym działaniem w stosunku do zwierząt jak i ludzi jednak brak jednoznacznych danych mogących to potwierdzić.

Celem badań była ocena wpływu TBBPA na stopień hemolizy oraz poziom methemoglobiny w erytrocytach człowieka. Erytrocyty inkubowano z badanym związkiem przez 24 godziny w zakresie stężeń od 1 do 500 µg/ml oraz przez 48 godzin w stężeniach od 0,01 do 250 µg/ml.

Zaobserwowano, że TBBPA wykazuje silne właściwości hemolityczne i oksydacyjne. Związek ten indukował hemolizę od stężenia 10 µg/ml po 24 i 48h inkubacji. Stwierdzono, także utlenienie hemoglobiny od stężenia 25 µg/ml po 24h inkubacji i 5 µg/ml po 48h. Obserwuje się wzrost uszkodzeń oksydacyjnych wraz ze wzrostem stężenia i czasu inkubacji.

Podsumowując TBBPA wykazuje silne właściwości cytotoksyczne i utleniające, należy jednak podkreślić, że te zmiany mogą wystąpić jedynie w wyniku zatrucia ostrego, a nie narażenia środowiskowego lub zawodowego.

**OCENA EKSPRESJI GENÓW KODUJĄCYCH ENZYMY ZAANGAŻOWANE  
W MECHANIZMY OCHRONY ANTYOKSYDACYJNEJ W KOMÓRKACH  
NOWOTWOROWYCH INKUBOWANYCH Z 5-TIO-*D*-GLUKOZĄ  
I 6-TIO-*B-D*-FRUKTOPIRANOZĄ**

Anna Czubatka-Bieńkowska<sup>1\*</sup>, Joanna Sarnik<sup>1</sup>, Anna Maciej<sup>1</sup>,  
Zbigniew Witczak<sup>2</sup>, Tomasz Popławski<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

2) Nesbitt School of Pharmacy, Wilkes University, 84 W. South Street, PA 18766 Wilkes-Barre, USA

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: acz@biol.uni.lodz.pl

5-tio-*D*-glukoza i 6-tio- $\beta$ -*D*-fruktopiranoza są cyto- i genotoksyczne w komórkach raka szyjki macicy (HeLa). Uzyskane dotychczas wyniki wskazują, że mechanizm działania badanych tiocukrów związany jest z indukcją stresu oksydacyjnego w komórce. Ponieważ z indukcją stresu oksydacyjnego powiązane są zmiany w ekspresji genów, uznawanych za markery stresu oksydacyjnego, to w celu potwierdzenia oksydacyjnego mechanizmu działania tiocukrów przeanalizowano profil ekspresji tych genów.

Celem pracy była ocena zmian w ekspresji genów kodujących białka związane ze szlakami aktywowanymi w odpowiedzi komórki na stres oksydacyjny oraz zaangażowanych w metabolizm ROS w komórkach HeLa w odpowiedzi na tiocukry. Porównano ekspresję genów *SOD1*, *SOD2*, *HMOX*, *GCLM*, *TXN*, *NCOA7*, *FHL2*, *NQO1*, *NOX 4* i *NOX5* pomiędzy komórkami po inkubacji z tiocukrami, a komórkami kontrolnymi– nie inkubowanymi z badanymi związkami. W tym celu zastosowano metodę ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym z wykorzystaniem sond Taqman.

Analiza profilu ekspresji genów związanych z reakcją komórki na stres oksydacyjny wykazała, że w komórkach HeLa po inkubacji z tiocukrami dochodzi do nadekspresji siedmiu z puli badanych genów, z wyjątkiem *TXN*, *NCOA7* i *NQO1*, w porównaniu do ekspresji tych samych genów w komórkach kontrolnych. Uzyskane wyniki potwierdzają hipotezę, że mechanizm działania tiocukrów jest związany z indukcją stresu oksydacyjnego.

## ANALIZA FENOTYPOWA MUTANTA *M. SMEGMATIS* POZBAWIONEGO FUNKcjONALNEGO GENU *PdTAS*

Karolina Dadura<sup>1,2\*</sup>, Renata Płocińska<sup>1</sup>, Karolina Lewandowska<sup>1</sup>, Jarosław Dziadek<sup>1</sup>

1) Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, Laboratorium Genetyki i Fizjologii *Mycobacterium*,  
ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź, Polska

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Studium Mikrobiologii, Biotechnologii  
i Biologii Eksperymentalnej, ul. Piłarskiego 14/16, 90-231 Łódź, Polska

email autora do korespondencji\*: [kdadura@cbm.pan.pl](mailto:kdadura@cbm.pan.pl)

*Mycobacterium tuberculosis* jest czynnikiem etiologicznym gruźlicy, choroby, na którą co roku umierają miliony ludzi na całym świecie. W ostatnich latach obserwuje się intensywny wzrost liczby szczepów wielolekoopornych, przeciwko którym współczesna medycyna bywa bezradna. Sukces *M. tuberculosis* jako patogenu związany jest ze zdolnością tych bakterii do adaptacji do różnorodnych warunków bytowania w organizmie człowieka na różnych etapach infekcji, dzięki szybkiej i adekwatnej odpowiedzi na sygnały docierające z otoczenia. Aby szybko i efektywnie przystosowywać się do zmieniających się warunków otoczenia komórki mykobakterii wykorzystują dwuskładnikowe systemy regulacyjne (TCSS).

Białko PdtA *Mycobacterium tuberculosis* wchodzi w skład dwukomponentowego systemu transdukcji sygnału. Białko to pełni rolę sensorowej kinazy zdolnej do autofosforylacji i przekazania reszty fosforanowej do regulatora odpowiedzi PdtR. TCSS PdtA/PdtR działa na poziomie antyterminacji transkrypcji.

Celem prowadzonych badań było zbadanie udziału histydynowej kinazy PdtA *Mycobacterium tuberculosis* w regulacji wybranych procesów metabolicznych mykobakterii. Cel realizowano poprzez badania fenotypowych zmian związanych ze zmianą poziomu badanych białek. W tym celu, z wykorzystaniem protokołu do rekombinacji homologicznej przygotowano mutant *M. smegmatis* defektywnego w wytwarzaniu białka PdtA ( $\Delta$ pdtA), jak również szczep zdolny do nadprodukcji tej sensorowej kinazy pod kontrolą indukowalnego promotora. Wymienione szczepy zostały poddane działaniu różnych czynników środowiskowych np: działaniu reaktywnych form tlenu (menadione) lub azotu – DETA/NO. Badane szczepy testowano również pod względem zdolności do wytwarzania biofilmu oraz ruchu.

**WPLYW FLUORU NA AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW ANTYOKSYDACYJNYCH  
I SYNTEZĘ ZWIĄZKÓW POŚREDNICH W PROCESIE PRODUKCJI LIPOKSYN  
I LEUKOTRIENÓW W POSZCZEGÓLNYCH STRUKTURACH MÓZGU SZCZURA**

Karolina Dec<sup>\*</sup>, Agnieszka Łukomska

*Pomorski Uniwersytet Medyczny, Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka,  
ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: karolina\_dec@wp.pl*

Fluor (F, *łac. Fluorum*) jest bardzo aktywnym niemetalem wykorzystywanym w przemyśle (np: do produkcji insektycydów) oraz w profilaktyce i diagnostyce medycznej. Związki zawierające fluor występują powszechnie w przyrodzie (w glebie, wodzie i powietrzu) oraz w produktach spożywczych. Długotrwała ekspozycja na ten pierwiastek może spowodować jego nadmierne kumulowanie się w tkankach i uszkodzenie narządów.

Celem przedstawionych badań była analiza aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz lipooksygenazy w korze, mózdku i hipokampie szczurów poddanych pre- i postnatalnej ekspozycji na fluor. W pracy wykorzystano szczury obu płci rasy Wistar. Szczury z grupy badanej otrzymywały 50 mg/L fluorku sodu (NaF) w wodzie do pica *ad libitum*, natomiast szczury z grupy kontrolnej otrzymywały wodę destylowaną. Po określonym okresie ekspozycji, od zabitych zwierząt pobrano korę, hipokamp i mózdek, które odpowiednio przygotowano do analizy. W badanym materiale oznaczono aktywność enzymów antyoksydacyjnych: katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej, glutationu, peroksydazy glutationowej, reduktazy glutationowej oraz stężenie HETE, HODE, lipoksyny i jej epimeru.

Przeprowadzone analizy wykazały istotne statystycznie zmiany w aktywności enzymów antyoksydacyjnych oraz lipooksygenazy. Zaobserwowane zmiany świadczą o niekorzystnym wpływie długotrwałej suplementacji fluorem na procesy wolnorodnikowe oraz syntezę cząsteczek odpowiedzialnych za inicjację, progresję i wygaszanie stanu zapalnego w badanych strukturach mózgu szczura.

## WPLYW WYBRANYCH FORMAMIDYNOWYCH POCHODNYCH DOKSORUBICYNY NA KOMÓRKI RAKA JAJNIKA LINII ES-2

Marta Denel-Bobrowska<sup>1\*</sup>, Małgorzata Łukawska<sup>2</sup>, Irena Oszczapowicz<sup>2</sup>, Agnieszka Marczak<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Instytut Biofizyki, Katedra Biofizyki Medycznej, Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

2) Instytut Biotechnologii i Antybiotyków, Zakład Antybiotyków Modyfikowanych,  
ul. Starościńska 5, 02-516 Warszawa

email autora do korespondencji\*: mdenel@biol.uni.lodz.pl

Z uwagi na budowę chemiczną antracyklin i obecność w ich cząsteczce wielu potencjalnych miejsc do modyfikacji, zarówno w aglikonie, jak i w części daunozaminowej, możliwe jest otrzymanie wielu ich analogów różniących się właściwościami zarówno fizykochemicznymi, jak i biologicznymi.

Celem badań była ocena cytotoksyczności pięciu formamidynowych pochodnych doksorubicyny, otrzymanych drogą chemicznych modyfikacji oraz ich zdolności do indukowania apoptozy w komórkach raka jajnika ES-2 (*Human Clear Cell Cancer Line*). Rezultaty uzyskane dla analogów porównywano z wynikami otrzymanymi dla doksorubicyny.

Analiza krzywych przeżywalności, jak również obliczonych parametrów IC<sub>50</sub> wykazała znacznie wyższą w porównaniu z doksorubicyną aktywność antyproliferacyjną trzech spośród pięciu badanych analogów (DOX-F PYR, DOX-F PIP, DOX-F MOR). Najwyższą cytotoksyczność uzyskano dla pochodnej DOX-F PIP, najniższą natomiast dla pochodnej DOX-F HEX. Analiza parametrów transportu analogów do komórek badanej linii nie wykazała istotnych statystycznie różnic między pochodnymi oraz związkiem macierzystym. Oceny zdolności badanych związków do indukowania apoptozy dokonano metodą podwójnego barwienia Hoechst 33258/jodek propidyny. Wykazano, że badane pochodne prowadzą do powstawania charakterystycznych dla programowanej śmierci komórki zmian morfologicznych obejmujących kondensację chromatyny, obkurczenie cytoplazmy, występowanie ciał apoptotycznych oraz poliploidię. Analiza ilościowa wyników wykazała, że największy odsetek komórek apoptotycznych obserwowano po działaniu DOX-F PIP.

Uzyskane rezultaty jasno wskazują, iż analogi wykazują zwiększoną aktywność wobec komórek raka jajnika ES-2 w porównaniu do efektu wywołanego przez DOX.

## **UDZIAŁ NANOSFER HYBRYDOWYCH PA66/POM W INDUKCJI STRESU OKSYDACYJNEGO W KOMÓRKACH NOWOTWOROWYCH RAKA PIERSI MCF-7**

Kamil Durka<sup>1\*</sup>, Karolina Matczak<sup>1</sup>, Amir Fahmi<sup>2</sup>, Aneta Koceva-Chyła<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Instytut Biofizyki, Katedra Biofizyki Medycznej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

2) Rhein-Waal University of Applied Science, Faculty of Technology and Bionics,  
Marie-Curie-Strasse 1, 47533 Kleve, Germany

email autora do korespondencji\*: [durka.kamil@gmail.com](mailto:durka.kamil@gmail.com)

Aktualne badania naukowe poszukujące skutecznych terapii przeciwnowotworowych skupiają się na syntezie i projektowaniu nowych związków, które mogłyby wykazywać właściwości cytostatyczne. Opracowanie nowych środków chemioterapeutycznych umożliwiłoby zmniejszenie skutków ubocznych obecnie stosowanej chemioterapii oraz pokonanie oporności wielolekowej.

Nanosfery hybrydowe PA66/POM należące do związków z grupy polioksometalanów działają jak nieorganiczne inhibitory kinazy białkowej (CK2). W związku z tym sugeruje się, że mogą wykazywać pożądane właściwości przeciwnowotworowe. Analizowane nanocząstki zawierały w swoim składzie polimer PA66 oraz trójtlenek wolframu (WO<sub>3</sub>) w różnym stężeniu – 3%, 10%, 30%.

Poziom reaktywnych form tlenu zmierzono metodą mikropłytkową przy użyciu znacznika fluorescencyjnego – H<sub>2</sub>DCFDA. Komórki raka piersi MCF-7 inkubowano ze związkami przez okres 30 minut oraz 3 godzin. Następnie komórki inkubowano z sondą w stężeniu 5 μmol/l przez 30 minut w temp 37°C i analizowano w czytniku do płytek Ascent Fluoroskan FL przy długości fali 530 nm po wzbudzeniu przy 485 nm przez okres 3 godzin, co 15 minut. Ocenę charakteru działania związków przeprowadzono poprzez preinkubację z N-acetylocysteiną (3 mmol/l) oraz wit. C (5 μmol/l).

Otrzymane wyniki sugerują, że produkcja reaktywnych form tlenu jest zależna od stężenie WO<sub>3</sub>, który jest częścią składową nanosfery hybrydowej PA66/POM. Związki pozbawione WO<sub>3</sub> nie indukowały stresu oksydacyjnego w komórkach nowotworowych. Przeciwnie do struktur, które go zawierały. Największy poziom reaktywnych form tlenu odnotowano dla nanohybrzyd z 10% WO<sub>3</sub>.

## **WPLYW PICEATANNOLU NA FUNKCJĘ I STRUKTURĘ DEHYDROGENAZY ALDEHYDU 3-FOSFOGLICERYNOWEGO**

Joanna Gerszon\*, Aleksandra Rodacka

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: joanna.gerszon@gmail.com*

Dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego (GAPDH) ze względu na dużą zawartość w komórce oraz wyjątkową wrażliwość na oksydacyjne modyfikacje uważana jest za jedno z głównych białek w największym stopniu uszkodzanych w wyniku działania stresu oksydacyjnego. Oksydacyjne modyfikacje reaktywnej reszty cysteinowej (Cys-152) występującej w centrum aktywnym, wpływają nie tylko na glikolityczne właściwości, ale także stymulują udział GAPDH w licznych procesach komórkowych, między innymi mogą prowadzić do tworzenia cytotoksycznych agregatów białkowych charakterystycznych w chorobach neurodegeneracyjnych. Stąd niezwykle ważnym jest znalezienie związków mogącym zapobiegać nieodwracalnym oksydacyjnym modyfikacjom GAPDH. Dotychczas przeprowadzone badania wykazały, że bardzo silne antyoksydacyjne właściwości posiadają pochodne stilbenowe, między innymi resweratrol. Udowodniono również, że związek ten przeciwdziała tworzeniu toksycznych agregatów białkowych.

Celem badań było sprawdzenie wpływu piceatannolu, analogu resweratrolu, na enzymatyczną aktywność i wybrane parametry struktury dehydrogenazy aldehydu 3-fosfoglicerynowego.

Wykazano, że piceatannol wpływa na aktywność GAPDH. Wraz ze wzrostem stężenia polifenolu obserwowano zwiększoną inaktywację dehydrogenazy. Spadek aktywności enzymu korelował z ubytkiem zawartości grup tiolowych oraz zmianą ładunku powierzchniowego. Piceatannol nie wpływał znacząco na zmiany struktury II-rzędowej.

Na podstawie uzyskanych wyników można przypuszczać że znaczna inaktywacja GAPDH pod wpływem piceatannolu związana jest z wiązaniem się polifenolu z cysteiną 152 występującą w centrum katalitycznym GAPDH.



## **AKTYWACJA TLR2 A KOMÓRKOWA HOMEOSTAZA REDOKS W MODELU *IN VITRO* RÓŻNICOWANIA MAKROFAGÓW**

Michał Gorzkiewicz<sup>1,2\*</sup>, Iwona Karwaciak<sup>1</sup>, Łukasz Pułaski<sup>1,3</sup>

1) Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, Pracownia Regulacji Transkrypcyjnej,  
ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź.

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

3) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji\*: gorzkiewicz.michal@biol.uni.lodz.pl

Monocyty i makrofagi, należące do leukocytów, są ważnymi elementami wrodzonego systemu odpornościowego. Posiadają one niezienne, nabyte w toku ewolucji tzw. receptory rozpoznające wzorce, które rozpoznają charakterystyczne struktury związane z patogenami i przekazują sygnał o infekcji, co prowadzi do aktywacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, indukcji ekspresji odpowiednich genów oraz syntezy związków odpowiedzialnych za wczesną reakcję organizmu na zakażenie. Jedną z głównych reakcji monocytów i makrofagów jest tzw. „wybuch tlenowy”, polegający na uwolnieniu wysoce reaktywnych form tlenu, toksycznych dla patogenów, ale również dla samych komórek układu odpornościowego. W związku z tym muszą one posiadać mechanizmy pozwalające na utrzymanie wewnątrzkomórkowej homeostazy redoks. Aktywowane monocyty i makrofagi wydzielają również cytokiny i chemokiny, wywołujące migrację leukocytów do miejsca zapalenia. Komórki te, w celu eliminacji patogenu, także mogą produkować RFT, przed którymi monocyty i makrofagi muszą się chronić.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu procesu różnicowania monocytów do makrofagów oraz aktywacji receptora TLR2 w obu typach komórek na zmiany ekspresji wybranych genów oraz stężenia glutationu i aktywności enzymów antyoksydacyjnych, przekładające się potencjalnie na przeżywalność komórek ludzkich linii monocytarnych THP-1 i Mono Mac 6 w warunkach stresu oksydacyjnego. Dowiedziono, że zarówno stymulacja komórek ligandem TLR2, jak i proces różnicowania mają znaczący wpływ na molekularne parametry homeostazy redoks i przeżywalność w warunkach stresu. Największe znaczenie w ochronie komórek należy przypisać podwyższonemu stężeniu glutationu i tioredoksyny oraz zwiększonej aktywności enzymów z nimi związanym, a także innych enzymów antyoksydacyjnych, jak dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza czy sestriny.

**ZNACZENIE CZYNNIKA MARTWICY NOWOTWORU  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) W CHOROBAH  
NOWOTWOROWYCH I UKŁADU SERCOWO-NACZYNIOWEGO ORAZ  
MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA TEJ CYTOKINY  
JAKO WSKAŹNIKA ROKOWNICZEGO**

Beniamin Grabarek\*, Emilia Wojdas, Nikola Zmarzły

*Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny  
Laboratoryjnej w Sosnowcu, Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec*

*email autora do korespondencji\* : beniamin.grabarek@med.sum.edu.pl*

Przewlekły stan zapalny to jeden z głównych czynników ryzyka rozwoju procesu kancerogenezy, a czynnik martwicy nowotworu  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) odkrywa w nim kluczową rolę. Warto zauważyć, że TNF- $\alpha$  w procesie kancerogenezy wykazuje ambiwalentne działanie. Z jednej strony hamuje proliferację nowotworowych komórek oraz nasila proces apoptozy, z drugiej ułatwia proces przerzutowania. Synteza w mikrośrodku guza małych ilości TNF- $\alpha$  powoduje jego wzrost, jak również nasila apoptozę komórek otaczających. Z kolei większa ilość daje stymulację odpowiedzi przeciwnowotworową.

Udział tej cytokiny w kancerogenezie znajduje potwierdzenie w badaniach. Wykazały one wzrost stężenia tego czynnika w surowicy pobranej od chorych na różne typy nowotworów. Ponadto wzrost ekspresji genu kodującego tę cytokinę zauważano już w stanach przednowotworowych, dlatego TNF- $\alpha$  może być wskaźnikiem świadczącym o rozwoju guza.

Cytokina ma również duże znaczenie w chorobach układu sercowo- naczyniowego. Sądzi się, iż TNF- $\alpha$  i inne cytokiny wytwarzane w nadmiarze to główne czynniki odpowiedzialne za postęp i rozwój niewydolności serca. Zależnie od stężenia TNF- $\alpha$  wywiera protekcyjny lub szkodliwy wpływ na funkcję serca i komórek myocardium. Stymuluje on wytwarzanie innych cytokin prozapalnych tj. IL-1, IL-6, wzmagając zaburzenia związane z metabolizmem mięśnia sercowego. Z tego względu TNF- $\alpha$  może stać się również markerem uszkodzenia mięśnia sercowego i nasilenia nadciśnienia tętniczego.

Rola i znaczenie tej cytokiny nie jest w dalszym ciągu w pełni zrozumiane, dlatego też wskazane jest poszerzanie zakresu badań nad TNF- $\alpha$ .

## **PRZYGOTOWANIE EKSPRESYJNYCH KONSTRUKCJI GENOWYCH DO MODYFIKACJI GENOMU ŚWINI DLA POTRZEB KSENOTRANSPLANTACJI**

Magdalena Hryhorowicz<sup>1\*</sup>, Joanna Zeyland<sup>1</sup>, Agnieszka Nowak<sup>1</sup>,

Ryszard Słomski<sup>1,2</sup>, Daniel Lipiński<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul Dojazd 11, 60-632 Poznań

2) Instytut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

email autora do korespondencji\*: [magdalena.hryhorowicz@gmail.com](mailto:magdalena.hryhorowicz@gmail.com)

Przeszczep tkanek i narządów jest obecnie skutecznym, często jedynym sposobem ratowania życia pacjentom ze schyłkową niewydolnością organów czy ofiarom wypadków. Dostępność narządów przeznaczonych do transplantacji jest ograniczona, a z roku na rok liczba osób oczekujących na wykonanie zabiegu wzrasta. Pogłębiający się z każdym rokiem niedobór organów zmusza do poszukiwania nowych dróg ich pozyskiwania. Szczególne nadzieje pokłada się w wykorzystaniu do przeszczepów u ludzi, narządów pochodzących od innych ssaków, czyli tzw. ksenotransplantacje.

Optymalnym dawcą organów do tego typu przeszczepów jest świnia domowa (*Sus scrofa*). Znaczny dystans filogenetyczny pomiędzy tym potencjalnym dawcą a człowiekiem, jest jednak przyczyną ogromnych problemów immunologicznych po przeszczepie. Dzięki osiągnięciom inżynierii genetycznej, możliwym stało się modyfikowanie genomu potencjalnego dawcy w celu uzyskania zwierząt transgenicznych, których organy nie były rozpoznawane przez układ immunologiczny człowieka, a procesy prowadzące do odrzucenia ksenoprzeszczepu ulegały zahamowaniu. Rozważa się różne strategie modyfikacji genetycznych świń, mających na celu zapobiegnięcie nadostrej reakcji immunologicznej, zahamowanie procesów komórkowego odrzucenia z udziałem makrofagów i komórek NK, a także zahamowanie odrzucania, którego przyczyną jest niekompatybilność białek biorących udział w regulacji układu krzepnięcia.

*Prezentowana praca uzyskała wsparcie finansowe z Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (umowa nr INNOMED/1/17/NCBR/2014) ze środków Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego.*

**MUTACJE W DOMENIE TRANSAKTYWACYJNEJ CZYNNIKA *ERYTHROID*  
*KRUPPEL-LIKE FACTOR (EKLF)* Z PIERWOTNĄ MUTACJĄ *NAN-EKLF* MAJĄ  
WPŁYW NA JEGO AKTYWNOŚĆ TRANSKRYPCYJNĄ**

Anna Izbicka<sup>\*</sup>, Piotr Wawrzyniak, Mirosława Siatecka

Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Genetyki,  
ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

email autora do korespondencji\*: [anna.izbicka@amu.edu.pl](mailto:anna.izbicka@amu.edu.pl)

EkLF (ang. *Erythroid Kruppel-like factor*) jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym proces erytropoezy na niemal wszystkich jej etapach. Należy do grupy czynników posiadających w domenie wiążącej DNA trzy palce cynkowe typu C2H2, które rozpoznają motyw 5'- NGG GT/CG T/GGG -3' sekwencji regulatorowych genów docelowych. Na N- końcu białka znajduje się domena transaktywacyjna. Badania prowadzone na myszach wykazały, że heterozygoty EkLF +/- zachowują fenotyp podobny do homozygot +/+. Natomiast homozygoty -/- są letalne w okresie życia zarodkowego, z powodu pogłębiającej się niedokrwistości. Mutacje czynników transkrypcyjnych, również EkLF, prowadzą do poważnych zaburzeń kontrolowanych przez nie procesów.

W omawianym projekcie skupiono się na mutacji Nan-EkLF (ang. *Neonatal anemia*). Wywołuje ona hemolityczną, neonatalną anemię, wynikającą z poważnych zaburzeń w budowie i funkcjonowaniu erytrocytów. Nieprawidłowy fenotyp uwidacznia się już u heterozygot +/Nan, homozygoty Nan/Nan są letalne. Dominujący charakter mutacji Nan powoduje drastycznie niski poziom ekspresji pewnej puli genów docelowych, między innymi dematyny, białka błonowego erytrocytów, czy BkLF kontrolującego różnicowanie się czerwonych krwinek. Mutacja Nanto pojedyncza substytucja kwasu glutaminowego w pozycji 339 drugiego palca cynkowego na kwas asparaginowy. Pozycja ta jest zaangażowana w rozpoznawanie i wiązanie sekwencji regulatorowych genów docelowych.

Celem projektu jest wyjaśnienie molekularnych mechanizmów działania Nan-EkLF. Jednym z zastosowanych podejść było wygenerowanie mutacji kompensującej efekty wywołane obecnością mutacji Nan. Regionem, w którym poszukiwano kompensacji była domena transaktywacyjna. Przy zastosowaniu Dual Reporter Luciferase Assay zmierzono aktywność transkrypcyjną mutantów względem genu reporterowego BkLF-Lucyferaza. Otrzymane wyniki sugerują zdolność mutacji kompensacyjnych do podwyższania ekspresji BkLF.

**POTENCJALNE MECHANIZMY MOLEKULARNE ZESPOŁU JELITA DRAŻLIWEGO**

Damian Jacenik<sup>\*</sup>, Adam I. Cygankiewicz

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytobiochemii,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: jacenik@biol.uni.lodz.pl

Zespół jelita drażliwego (IBS, ang. *irritable bowel syndrome*) jest przewlekłą chorobą układu pokarmowego, manifestującą się nawracającymi bólami brzucha oraz zaburzeniami czynnościowymi jelit. Istnieje wiele hipotez na temat etiologii zespołu jelita drażliwego, wśród których istnieje pogląd, że estrogeny odgrywają kluczową rolę w patofizjologii IBS. Hormony te wywierają wpływ na komórki poprzez receptory estrogenów, wśród których możemy wyróżnić kanoniczne receptory estrogenów (ERs, ang. *estrogen receptors*)  $\alpha$  i  $\beta$  oraz receptor estrogenów oddziałujący z białkami G (GPER, ang. *G protein-coupled estrogen receptor*).

Celem prowadzonych badań było określenie udziału receptora estrogenów GPER w zespole jelita drażliwego z przewagą zaparcí (IBS-C, ang. *IBS-constipation*) oraz biegunki (IBS-D, ang. *IBS-diarrhea*). Ocenie poddano poziom ekspresji receptora estrogenów GPER, a poszukując mechanizmów regulujących ekspresję receptora GPER analizowano profil metylacji wysp CpG w regionie promotorowym genu *GPER*.

Wzrost ekspresji receptora estrogenów GPER zarówno na poziomie mRNA, jak i białka obserwowano w biopsjach pobranych od pacjentów z IBS-C i IBS-D. Przeprowadzona analiza profilu metylacji ujawniła spadek metylacji wysp CpG regionu promotorowego genu *GPER* w biopsjach pobranych od pacjentów z IBS-C i IBS-D w porównaniu do komórek prawidłowych nabłonka jelita. Wykazano również wzrost poziomu metylacji wysp CpG regionu promotorowego genu *GPER* w krwi pacjentów ze zdiagnozowanym IBS.

Uzyskane wyniki sugerują udział receptora estrogenów oddziałującego z białkami G w zespole jelita drażliwego. Przeprowadzona analiza metylacji wysp CpG regionu promotorowego genu *GPER* pozwala na stwierdzenie, że receptor estrogenów GPER może być lokalnie zaangażowany w procesy patofizjologiczne w zespole jelita drażliwego.

## **ROLA ŚCIEŻKI SYGNALIZACYJNEJ FGF4/MAPK W REGULACJI ROZWOJU CHIMEROWEGO ZARODKA MYSZY**

Anna Kaspercuk<sup>\*</sup>, Aneta Suwińska

*Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Embriologii, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [anna.kaspercuk@biol.uw.edu.pl](mailto:anna.kaspercuk@biol.uw.edu.pl)*

Przedimplantacyjny zarodek myszy (ssaka) jest niezwykle plastyczny. Oznacza to, że niezależnie od wprowadzanych w nim eksperymentalnie zmian, takich jak manipulacja liczbą i pozycją jego komórek, potrafi on kontynuować normalny rozwój, który może zakończyć się narodzinami prawidłowo rozwiniętego osobnika.

Mechanizmy molekularne biorące udział w regulacji rozwoju zarodkowego myszy nie są dokładnie poznane. Wyniki naszych niepublikowanych badań wskazują na to, że w zarodkach chimerowych powstałych w wyniku mikrochirurgicznego wprowadzenia komórek ES do 8-komórkowego zarodka oddziaływania pomiędzy blastomerami zarodka gospodarza oraz komórkami ES są odpowiedzialne za kontrolę typu podziału bruzdkowania, któremu podlega chimerowy zarodek (symetryczny lub asymetryczny wzór cytokinezy). Linie pozazarodkowe blastycysty rozwijającej się z takiego zarodka (PE i TE) są tworzone preferencyjnie przez komórki zarodka-gospodarza, a EPI budują albo wyłącznie komórki potomne ES albo komórki ES wraz z komórkami własnymi zarodka. Te wyniki wskazują na to, że musi istnieć jakiś mechanizm regulujący, opierający się na komunikacji między komórkami zarodka, decydujący o ich dalszym losie rozwojowym.

Kandydatem potencjalnie zaangażowanym w te międzykomórkowe interakcje jest czynnik wzrostu fibroblastów (Fgf4, ang. fibroblast growth factor), który wiążąc się z receptorem FgfR2 aktywuje ścieżkę kinazy MAP (MAPK, mitogen-activated protein kinase) i indukuje różne odpowiedzi biologiczne. Celem naszego projektu jest zatem określenie roli ścieżki FGF4/MAPK w rozwoju zarodka chimerowego.

Wyniki przeprowadzonych badań będą cenne dla analizy pluripotencji komórek ES, jak również komórek powstającego w czasie embriogenezy zarodka. Ponadto, dzięki nim, będzie można w przyszłości określić pochodzenie poszczególnych typów komórek zarodka powstających podczas jego rozwoju. Wyniki badań będą również mogły przyczynić się do ulepszenia procedury uzyskiwania transgenicznych zwierząt.

**MUTACJE ERYTHROID KRÜPPEL-LIKE FACTOR (EKLF) W POZYCJI E339  
DRUGIEGO PALCA CYNKOWEGO ZMIENIAJĄ SPECYFICZNOŚĆ CZYNNIKA  
TRANSKRYPCYJNEGO POD WZGLĘDEM ROZPOZNAWANYCH  
I WIĄZANYCH SEKWENCJI DNA**

Klaudia Kulczyńska<sup>\*</sup>, Mirosława Siatecka

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: k.kulczynska@amu.edu.pl*

Przebieg erytropoezy jest kontrolowany, na poziomie molekularnym przez szereg czynników transkrypcyjnych np.: GATA1, TAL1 czy EKLF. EKLF (ErythroidKrüppel-likeFactor) odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji genów  $\beta$ -globiny, a także genów związanych z syntezą hemu, cytoszkieletem erytrocytów, kontrolą cyklu komórkowego, itp. EKLF jest zbudowany z domeny transaktywacyjnej i domeny wiążącej DNA (trzy palce cynkowe). Mutacje w tych czynnikach często powodują zaburzenia hematologiczne. Jednym z takich przykładów są zmiany w pozycji 339, drugiego palca cynkowego, bezpośrednio zaangażowanej w rozpoznawanie i wiązanie się EKLF do DNA. U myszy mutacja E339D powoduje hemolityczną, neonatalną anemię z elementami sferocytozy- „Nan\_EKLF”, zaś mutacja E325K prowadzi do powstania wrodzonej niedokrwistości dyserytropoetycznej podtypu IV- „CDA-EKLF”. Obie te mutacje są dominujące, heterozygoty Nan/+, czy CDA/+ wykazują patologiczny fenotyp. Jest to związane z rozpoznawaniem i wiązaniem innej sekwencji konsensusowej niż ta charakterystyczna dla białka dzikiego.

Nasze badania mają na celu określenie sekwencji konsensusowych dla białka EKLF z mutacjami w pozycji 339 związanymi z zaburzeniami erytropoezy. Białka Nan-EKLF i CDA-EKLF były badane pod względem zdolności tworzenia kompleksów z sekwencjami promotorowymi genów docelowych dla WT-EKLF. Wyniki pokazują że mutanty mają zaburzoną zdolność wiązania części tych sekwencji. Przeprowadziliśmy analizy pozwalające określić sekwencję konsensusową związaną przez białko typu dzikiego WT-EKLF oraz białek Nan-EKLF i CDA-EKLF. Wyselekcjonowane sekwencje poddaliśmy sekwencjonowaniu nowej generacji (IonTorrent) i analizie bioinformatycznej. Testowaliśmy współzależność pomiędzy wprowadzeniem innych aminokwasów w pozycję 339, a specyficznością rozpoznawanej i wiązanej sekwencji DNA z pomocą EMSA (Elektromobilityshiftassay). Przeprowadzane badania wykazały, że każda substytucja w pozycji 339 palców cynkowych białka EKLF, wiąże się ze zmianą rozpoznawanej sekwencji konsensusowej.

*Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki, projekt: 2013/09/B/NZ1/01879.*

**ZMIANY W EKSPRESJI BIAŁKA MMP-2 I MMP-9 W MÓZGACH SZCZURÓW  
EKSPONOWANYCH NA NISKIE STĘŻENIA FLUORU W OKRESIE  
PRE- I NEONATALNYM**

Agnieszka Łukomska\*, Karolina Dec, Karolina Jakubczyk

*Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie, Zakład Biochemii i Żywienia Człowieka,  
ul. Broniewskiego 24, 71-460 Szczecin*

*email autora do korespondencji\*: agnieszka.lukomska@pum.edu.pl*

Macierz zewnątrzkomórkowa (ECM) centralnego układu nerwowego stanowi podścielisko dla zanurzonych w niej komórek nerwowych oraz glejowych, pełniąc jednocześnie funkcję swoistego modyfikatora tych komórek. Zarówno procesom fizjologicznym, takim jak uczenie się czy zapamiętywanie, jak i patologicznym towarzyszą zmiany struktury i funkcji synaps powodowane działaniem enzymów ECM, wśród których istotną rolę odgrywają metaloproteinazy (MMPs). Szczególnie interesujące wydają się być metaloproteinaza 9 i 2 (MMP-9 i MMP-2). MMP-9 jest silnie ekspresjonowana w neuronach, zwłaszcza w dendrytach i ciałkach komórek nerwowych, natomiast MMP-2 w astrocytach.

Fluor jest silną neurotoksyną, powoduje degenerację struktur takich jak hipokamp, kora mózgu i mózdzek. Narażenie na działanie fluoru hamuje aktywność receptorów w mózgu oraz zmniejsza produkcję neurotransmiterów. Istnieją pierwsze doniesienia dotyczącego wpływu wysokich stężeń fluorku sodu na hamowanie aktywności MMP-9 i MMP-2 izolowanych z ludzkiej śliny. Brak jest jednak danych odnośnie do wpływu niskich stężeń fluoru na ekspresję białka tych enzymów w mózgu.

W niniejszych badaniach szczury, których mózgi zostały poddane analizie, były eksponowane na fluor już w okresie prenatalnym aż do osiągnięcia wieku trzech miesięcy. Po tym czasie zostały uśmiercone i pobrano od nich korę, hipokamp, prążkowie i mózdzek do dalszych badań. We wszystkich wymienionych strukturach oznaczono ekspresję białka MMP-9 i MMP-2 metodą ELISA. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań, można wnioskować, że fluor już w niskich stężeniach wpływa na ekspresję białka MMP-9 i MMP-2. W grupie badanej zaobserwowano istotny statystycznie wzrost poziomu MMP-2 w korze, prążkowie i mózdku oraz spadek poziomu MMP-9 w korze i mózdku w odniesieniu do kontroli.



## MAPOWANIE LOCI CECH IŁOŚCIOWYCH (QTL) ZWIĄZANYCH Z GRUBIENIEM KORZENIA SPICHRZOWEGO U MARCHWI UPRAWNEJ

Gabriela Machaj\*, Katarzyna Stelmach, Alicja Macko-Podgórn, Dariusz Grzebelus

*Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii,  
Al. 29 Listopada 54, 31 - 425 Kraków*

*email autora do korespondencji\*: gabrielamachaj@gmail.com*

Marchew uprawna (*Daucus carota* subsp. *sativus*) ze względu na swoje wartości odżywcze jest jednym z najważniejszych warzyw korzeniowych uprawianym na świecie. W przeciwieństwie do swojego protoplasty - marchwi dzikiej (*Daucus carota* subsp. *carota*), marchew uprawna wytwarza korzeń spichrzowy, który oprócz prowitaminy A akumuluje znaczne ilości węglowodanów i witamin. Mimo, że udomowienie marchwi miało miejsce ponad 1000 lat temu, mechanizmy genetyczne odpowiedzialne za rozwój korzenia spichrzowego u marchwi uprawnej nadal nie zostały scharakteryzowane. Dopiero ostatnie wyniki badań, sugerują udział genu z rodziny AHL (CULT), zlokalizowanego w dystalnej części długiego ramienia chromosomu drugiego w przyroście korzenia na grubość. W celu weryfikacji tej hipotezy oraz identyfikacji innych loci związanych z rozwojem korzenia spichrzowego przeprowadzono mapowanie genomu marchwi z wykorzystaniem polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP). Populacja mapująca (F2) obejmowała 186 roślin powstałych przez krzyżowe zapylenia marchwi uprawnej (linia 2874B) i marchwi dzikiej (*Daucus carota* L. subsp. *commutatus*). Zastosowanie wysokoprzepustowej technologii GBS (*genotyping-by-sequencing*) pozwoliło na identyfikację kilku tysięcy polimorfizmów, z których wyselekcjonowano 1375 najbardziej informatywnych. Markery zostały przyporządkowane do dziewięciu grup sprzężeniowych o długościach: ok: 75 cM, 69 cM, 71 cM, 52 cM, 61 cM, 66 cM, 12 cM, 61 cM i 50 cM. Powstała mapa genetyczna wraz z wynikami pomiarów stosunku szerokości ramienia do szerokości głowy korzenia (stanowiących miarę przyrostu korzenia na grubość) posłużyły do mapowania QTLi. Analiza QTL (Composite Interval Mapping) pozwoliła na identyfikację 5 QTLi zlokalizowanych na chromosomach: drugim (59,5-69 cM), trzecim (33,5-53,6 cM), czwartym (14,7-34,8 cM), piątym (28,5-48,7 cM) oraz ósmym (38,2-46,4 cM). Identyfikacja QTLa w lokalizacji genu CULT potwierdza udział tego genu w procesie formowania korzenia spichrzowego.

**UWRAŻLIWIANIE KOMÓREK LUDZKIEGO RAKA JAJNIKA NA CISPLATYNĘ****I ETOPOZYD ZA POMOCĄ INHIBITORÓW NAPRAWY****PODWÓJNYCH PĘKNIĘĆ DNA**

Anna Maciejka<sup>\*</sup>, Tomasz Popławski

*Uniwersytet Łódzki, Katedra Genetyki Molekularnej, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: annamaciejka@gmail.com*

Terapia łączona z wykorzystaniem cisplatyny i etopozynu jest jednym ze schematów leczenia wykorzystywanych w terapii raka jajnika. Leki te w sposób pośredni i bezpośredni indukują najpoważniejszy typ uszkodzeń DNA - podwójne pęknięcia nici. Ich naprawa przebiega na drodze rekombinacji homologicznej (HDR – ang. homologous recombination) lub przez niehomologiczne łączenie końców (NHEJ – ang. non-homologous end-joining). W przypadku leków przeciwnowotworowych szczególnie pożądana jest ich zdolność do zaburzania procesów przekazywania komórkowego oraz procesów naprawy DNA. Zaobserwowano, że inhibitory białek biorących udział w szlakach naprawy poprawiają efektywność działania leków przeciwnowotworowych, dla których celem jest DNA.

Celem pracy była ocena wpływu inhibitorów szlaków naprawy HDR i NHEJ na cytotoksyczne działanie etopozynu i cisplatyny na komórki raka jajnika wrażliwe (A2780) i odporne (A2780cis) na cisplatynę. Wykorzystano dwa inhibitory: YU238259 odpowiedzialny za hamowanie szlaku naprawy HDR oraz A12B4C3 – inhibitor szlaku NHEJ.

Zastosowanie inhibitorów spowodowało wzrost cytotoksycznego działania cisplatyny i etopozynu na komórki raka jajnika. Efekt ten był silniejszy po zastosowaniu YU238259 – odnotowano trzykrotny wzrost cytotoksycznego działania etopozynu i prawie dwukrotny wzrost w przypadku cisplatyny. Ponadto, YU238259 wzmacnia synergizm działania kombinacji cisplatyna/etopozyn. Zjawisko to było bardziej widoczne w przypadku linii A2780cis, co świadczy o możliwości wykorzystania YU238259 do przełamывania oporności na cisplatynę. Badane inhibitory powodowały wzrost liczby pęknięć dwuniciowych DNA indukowanych działaniem leków, a także spadek efektywności naprawy tych uszkodzeń. Zaobserwowano również wzrost akumulacji komórek w punkcie kontrolnym cyklu G2/M oraz w fazie S.

Stwierdzono, iż pozytywny wpływ inhibitorów na wzrost toksyczności cisplatyny i etopozynu względem komórek raka jajnika jest związany z indukcją pęknięć dwuniciowych DNA, zmniejszeniem efektywności ich naprawy oraz zatrzymaniem cyklu komórkowego w fazie G2/S.

*Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, na podstawie decyzji nr DEC-2013/11/B/NZ7/013.*

## WPLYW WYBRANYCH BISFENOLI NA POZIOM GLUTATIONU I REAKTYWNYCH FORM TLENU W ERYTROCYTACH CZŁOWIEKA

Aneta Maćczak<sup>\*</sup>, Paulina Kolmaga, Bożena Bukowska, Jaromir Michałowicz

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

*email autora do korespondencji*<sup>\*</sup>: anetkam2501@wp.pl

Bisfenole to grupa związków chemicznych powszechnie stosowanych w produkcji poliwęglanów, żywic epoksydowych i papieru termicznego. Wśród omawianych substancji w największych ilościach produkowany jest bisfenol A (BPA) i bisfenol F (BPF). Ponadto, odnotowuje się zwiększoną produkcję bisfenolu S (BPS) stosowanego najczęściej jako substytut dla BPA, wykazującego szkodliwe oddziaływanie na organizm człowieka.

Celem badań była ocena wpływu BPA, BPF i BPS na wybrane parametry stresu oksydacyjnego, takie jak poziom reaktywnych form tlenu (RFT) (w tym rodnik hydroksylowy) oraz poziomu zredukowanego glutationu (GSH) w erytrocytach człowieka. Analizowane związki stosowano w zakresie stężeń od 0,5 do 250 µg/ml. Erytrocyty inkubowano z bisfenolami przez 4 (dla RFT i rodnika  $\cdot\text{OH}$ ) lub 24 godziny (dla GSH).

Zaobserwowano spadek poziomu GSH pod wpływem BPA w zakresie stężeń 5-250 µg/ml oraz BPF w stężeniach 50-250 µg/ml. Natomiast BPS nie spowodował statystycznie istotnych różnic w badanym parametrze.

Wykazano, że BPA (25-250 µg/ml) podwyższał poziom RFT w erytrocytach człowieka, z kolei BPF i BPS spowodowały zmiany jednak były one statystycznie nieistotne. Badane związki nie spowodowały statystycznie istotnych zmian w poziomie rodnika hydroksylowego.

Zmiany w analizowanych parametrach odnotowano pod wpływem stosunkowo wysokich stężeń badanych bisfenoli, które mogą oddziaływać na organizm człowieka na skutek narażenia zawodowego (spadek poziomu GSH pod wpływem BPA) lub zatrucia podostrego tymi substancjami.

*Praca wykonana w ramach grantu NCN pt. „Analiza mechanizmu oddziaływania wybranych bisfenoli na erytrocyty i jednojądrzaste komórki krwi obwodowej człowieka” (kierownik dr hab. Jaromir Michałowicz, prof. nadzw. UL).*

**POLIMORFIZM W GENIE RECEPTORA SEROTONINY U KOBIET I MĘŻCZYZN  
ZE ZDIAGNOZOWANYM AUTYZMEM**

Cezary Odrzygóźdź\*, Anna Cieślińska, Michał Matysiewicz,  
Ewa Fiedorowicz, Elżbieta Kostyra

*Międzywydziałowe Koło Naukowe Biochemii Medycznej Wydziału Nauk Medycznych & Wydziału Biologii  
i Biotechnologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, ul. Michała Oczapowskiego 2, 10-719 Olsztyn*

*email autora do korespondencji\*:codrzygozdz@gmail.com*

Serotonina jest hormonem tkankowym wydzielanym w podwzgórze. Jest ona ważnym neuroprzekaznikiem w CUN (Centralny Układ Nerwowy). Efektem niedoboru serotoniny, braku jej transporterów lub receptorów jest wiele chorób, np. depresja, liczne wahania nastrojów, niestabilność emocjonalna, schizofrenia i inne zaburzenia neurologiczne. Zaburzenia funkcjonowania układu serotoninowego mogą być przyczyną zachowania charakterystycznego dla osób ze zdiagnozowanym autyzmem, który charakteryzuje się upośledzeniem interakcji społecznych i zaburzeniami mowy, ogólnej komunikacji oraz powtarzalnymi, stereotypowymi wzorcami zachowań. W genie receptora serotoninowego scharakteryzowano kilka mutacji punktowych, z czego najczęściej łączony z zaburzeniami psychicznymi jest polimorfizm występujący w promotorze receptora serotoninowego (- 1438G).

Celem pracy było ustalenie związku między polimorfizmem w genie receptora serotoniny 5-HT (- 1438G), a występowaniem autyzmu w populacji kobiet i mężczyzn ze zdiagnozowanym autyzmem (kobiety=17, mężczyźni=84) oraz w grupie kontrolnej (kobiety=54, mężczyźni=63). Materiał genetyczny pochodził z krwi obwodowej, natomiast polimorfizm genu określono za pomocą metody PCR-RFLP. Do analizy zgodności uzyskanych rozkładów genotypów z równowagą Hardy-Weinberg'a został użyty Test  $\chi^2$ . Iloraz szans (OR) i 95% przedział ufności (CI) obliczono za pomocą analizy regresji logistycznej. Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą oprogramowania GraphPadPrism.

Uzyskane wyniki wskazują, że allel A w genie receptora serotoniny 5-HT (- 1438G) występuje częściej u osób z autyzmem (OR=1,76; 95%CI=1,06-2,90; P=0,03). Ponadto u mężczyzn allel A występuje częściej niż u kobiet, co potwierdza dane na temat częstszego występowania autyzmu u płci męskiej.

## **WPLYW BIAŁKA PARP 1 NA POWSTAWANIE IMMUNOTOLERANCJI LUDZKICH MONOCYTÓW WYWOŁANEJ DZIAŁANIEM ENDOTOKSYNY BAKTERYJNEJ**

Ewa Pikus<sup>\*</sup>, Ewelina Wiśnik, Agnieszka Robaszkiewicz

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: ewa.pikus@wp.pl*

Polimeraza poli(ADP)rybozy (PARP1) kodowana jest przez gen *PARP1*, zlokalizowany na długich ramionach chromosomu 1. Enzym ten bierze udział w wielu procesach komórkowych takich jak podział komórki, replikacja, transkrypcja, utrzymanie stabilności genomu, naprawa DNA, nekroza. Ponadto powoduje potranslacyjną modyfikację histonów - ADP-rybozylację. PARP1 poprzez fizyczne oddziaływanie z nicią DNA oraz ADP-rybozylację nukleosomów może wpływać na stopień metylacji i acetylacji histonów, które warunkują dostępność DNA dla czynników transkrypcyjnych w obrębie sekwencji regulatorowych wielu genów, do których należą m.in. geny kodujące cytokiny prozapalne ulegające ekspresji w odpowiedzi na wniknięcie do organizmu patogenów.

Celem omawianej pracy było sprawdzenie wpływu białka PARP1 oraz jego inhibicji na dynamikę struktury chromatyny w obrębie sekwencji promotorowych genów kodujących wybrane cytokiny prozapalne w indukowanej endotoksyną bakteryjną (LPS) immunotolerancji ludzkich monocytów.

Badania prowadzono na modelu nieśmiertelnionych monocytów ludzkich – linia THP1 oraz ludzkich monocytach z krwi obwodowej – poddanych działaniu LPSu i olaparibu będącego klinicznie stosowanym inhibitorem białka PARP1. W celu indukowania immunotolerancji monocyty poddawano 24-godzinnej inkubacji z bakteryjną endotoksyną, po czym komórki stymulowane były ponownie przez godzinę.

W dotychczasowych badaniach zaobserwowano, że poziom białka PARP1 nie ulega zmianie w trakcie nabywania tolerancji, a jego brak nie wpływa na powstawanie zjawiska immunotolerancji. Pod wpływem LPSu białko PARP1 ulega częściowo oddysocjowaniu od chromatyny, natomiast olaparib utrzymuje enzym w formie związanej z chromatyną i zapobiega powstawaniu zjawiska immunotolerancji podtrzymując zdolność ludzkich monocytów do transkrypcji cytokin prozapalnych.

*Praca została sfinansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki (UMO-2013/11/D/NZ2/00033 – Agnieszka Robaszkiewicz, kierownik projektu).*

**ANALIZA ZMIAN EKSPRESJI GENÓW KODUJĄCYCH BIAŁKA BIORĄCE UDZIAŁ  
W ODPOWIEDZI NA STRES OKSYDACYJNY W KOMÓRKACH  
NOWOTWOROWYCH INKUBOWANYCH Z TIODISACHARYDAMI**

Joanna Sarnik<sup>1\*</sup>, Anna Czubatka-Bieńkowska<sup>1</sup>, Anna Macieja<sup>1</sup>,

Zbigniew J. Witczak<sup>2</sup>, Tomasz Popławski<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Genetyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska

2) Department of Pharmaceutical Sciences, Wilkes University, Nesbitt School of Pharmacy,  
Wilkes-Barre, 84 W. South Street, PA 18766, USA

*email autora do korespondencji\**: sarnikjoanna@gmail.com

Węglowodany oraz ich pochodne są stosowane do syntezy leków wykorzystywanych w terapii chorób infekcyjnych, układowych i nowotworowych człowieka. W tym celu modyfikuje się je poprzez dołączenie do podstawy węglowodanowej grup funkcyjnych o różnym charakterze chemicznym, co zwiększa ich potencjał farmakologiczny. Tiodisacharydy wykorzystywane w pracy zbudowane są z glukozy i galaktozy, a modyfikacja w budowie polega na obecności atomu siarki zastępującego atom tlenu łączący dwa monocukry.

Celem pracy była analiza poziomu ekspresji genów aktywowanych w odpowiedzi na stres oksydacyjny indukowany badanymi tiodisacharydami w komórkach linii nowotworowej HeLa. Poziom ekspresji genów w komórkach kontrolnych i po inkubacji z tiodisacharydami badano za pomocą metody Real-Time PCR przy użyciu sond molekularnych TaqMan.

Uzyskane wyniki wskazują na wzrost ekspresji genów SOD1, SOD2, HMOX, GCLM, NQO1, FHL2 oraz niższą ekspresję genów NOX4, NOX5, NCOA7 i TXN w stosunku do kontroli. Analiza i porównanie zmian ekspresji genów zaangażowanych w metabolizm ROS stanowią uzupełnienie poprzednio prowadzonych badań nad oceną aktywności przeciwnowotworowej FCP, która wiąże się z indukcją stresu oksydacyjnego.

*Praca finansowana z grantów Narodowego Centrum Nauki nr DEC-2011/01/B/NZ4/03391 oraz DEC-2014/15/N/NZ7/02948.*

**OPTIMALIZACJA NADEKSPRESJI LUDZKIEGO BIAŁKA HINT3****W SYSTEMIE BAKTERYJNYM *E. COLI***

Aleksandra Sęda<sup>\*</sup>, Rafał Dolot, Małgorzata Sierant, Barbara Nawrot

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk,  
Zakład Chemii Bioorganicznej, ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [aseda@cbmm.lodz.pl](mailto:aseda@cbmm.lodz.pl)

Białko HINT3 należy do rodziny białek triady histydynowej wiążących nukleotydy (ang. *histidine triad nucleotide binding protein; HINT*). Występuje wyłącznie w organizmach eukariotycznych i składa się ze 182 aminokwasów o łącznej masie 20,4 kDa. Białko to można znaleźć zarówno w jądrze komórkowym, jak i, w formie agregatów, w cytoplazmie. Białko HINT3 tworzy złożone struktury, od dimeru do oktameru oraz większe formy oligomeryczne. Jego struktura III-rzędowa nadal nie została określona.

Nadekspresję białka HINT3 uzyskano w systemie bakteryjnym *E. coli* w szczepach BL21(DE3) oraz BL21 Star (DE3), do których wprowadzono plazmid pHAT2, zawierający wstawkę kodującą ludzkie białko HINT3. Ze względu na uzyskane początkowo niewielkie ilości rozpuszczalnego białka HINT3 (większa część białka akumulowała się we frakcji białek nierozpuszczalnych, w tzw. ciałach inkluzyjnych), do bakterii BL21 Star (DE3) wprowadzono dodatkowy plazmid pRARE kodujący cząsteczki tRNA, specyficzne dla tzw. rzadkich kodonów (AGA, AGG dla Arg, GGA dla Gly, AUA dla Ile, CUA dla Leu czy CCC dla Pro). Kodony te występują często w transkryptach kodujących białka eukariotyczne, natomiast nie są charakterystyczne dla transkryptów bakteryjnych. Hodowlę bakterii ekspresyjnych prowadzono na podłożu LB i 2YT z antybiotykami (ampicyliną i chloramfenikolem) w temp. 37°C aż do uzyskania gęstości optycznej OD=0,6 (bakterie w eksponentalnej fazie wzrostu). Nadekspresję genu *Hint3* indukowano za pomocą IPTG (1-5 mM). Dalszą hodowlę prowadzono w temperaturze 20°C, 30°C lub w 37°C. Po zakończeniu hodowli i zebraniu komórek bakteryjnych poprzez wirowanie przeprowadzono rozbicie ściany komórkowej bakterii metodą dezintegracji ultradźwiękowej. Frakcje białek rozpuszczalnych (supernatant) i nierozpuszczalnych (osad) rozdzielono metodą wirowania. Obecność białka HINT3 w obu frakcjach analizowano metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym (SDS-PAGE).

Celem przeprowadzonych badań była optymalizacja procesu nadekspresji ludzkiego homologu białka HINT3, które w dalszym etapie zostanie oczyszczone i posłużą do krystalizacji, będącej podstawą do rozwiązania jego struktury przestrzennej.

## **WPLYW RĄBKA ROGÓWKI ŚWINI NA EKSPRESJĘ CK12 W KOMÓRKACH MACIERZYSTYCH POCHODZĄCYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ**

Bartosz Sikora<sup>1\*</sup>, Aleksandra Skubis<sup>1</sup>, Małgorzata Kimsa<sup>2</sup>, Marek Kostrzewski<sup>4</sup>,

Jerzy Stojko<sup>3</sup>, Urszula Mazurek<sup>1</sup>

1) Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, ul. Jedności 8, 41-200 Sosnowiec

2) Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Lekarski, Katedra i Zakład Biochemii, ul. Medyków 18, 40-752 Katowice

3) Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Zakład Higieny, Bioanalizy i Badania Środowiska, ul. Kasztanowa 3A, 41-200 Sosnowiec

4) Śląska Poliklinika Weterynaryjna, ul. Stefana Batorego 11, 41-500 Chorzów

email autora do korespondencji\*: bartoszsikora90@gmail.com, bartosz.sikora@med.sum.edu.pl

Uszkodzenia rogówek oka ludzkiego i ich dysfunkcje prowadzą do upośledzenia wzroku lub całkowitej ślepoty i stanowią duże wyzwanie dla medycyny regeneracyjnej. Obecnie znane metody leczenia rogówki, są obarczone wysokim ryzykiem niepowodzenia. Głównym problemem jest przede wszystkim zbyt mała ilość przeprowadzanych transplantacji rogówki, to natomiast wiąże się z bardzo długim okresem oczekiwania na zabieg.

Nadzieje na alternatywne źródło tkanek do przeszczepu niosą ze sobą ksenotransplantacje. Wykazano, że antygen Gal, którego obecność indukuje odrzucenie ksenograftu, jest prawie nieobecny w świńskiej rogówce, co potencjalnie stwarza możliwość transplantacji tkanek lub komórek pochodzących z organizmu świni domowej.

Komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej (ang. ADSC – adipose derived stem cells) wykazują zdolność do regeneracji różnych tkanek. Ułatwiają gojenie się ran przez proliferację i różnicowanie. Jedną z hipotez zakłada, że wykazują one zdolność do różnicowania w epitelialne komórki rogówki. Prawdopodobnie ich wykorzystanie może przyczynić się do opracowania nowej metody leczenia nieodwracalnych uszkodzeń rogówki.

Komórki epitelialne rogówki wykazują ekspresję cytokeratyny 12 (CK12). Specyficzność ekspresji CK12 dla tych komórek sprawia, że jest to powszechnie wykorzystywany marker molekularny w ich identyfikacji.

Celem pracy było zaindukowanie procesu różnicowania komórek ADSC pod wpływem działania rąbka rogówki pobranego od świń, hodowanych w układzie kokultury oraz ocena ekspresji CK12 w komórkach ADSC.



**WYKORZYSTANIE POLIMORFIZMU INSERCJI TRANZPOZONÓW *DCSTO*****DO OPRACOWANIA MARKERÓW ILP U MARCHWI**

Katarzyna Stelmach<sup>\*</sup>, Alicja Macko-Podgórni, Gabriela Machaj, Dariusz Grzebelus

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii,  
al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: k.stelmach@ogr.ur.krakow.pl

Ruchome elementy genetyczne stanowią ważną składową genomu każdego organizmu. Wśród nich wyróżniono dwie klasy: I – retrotranspozony oraz II – transpozony DNA. Transpozony MITE (ang. *Miniature Inverted-repeat Transposable Elements*) należą do krótkich nieautonomicznych elementów klasy II. Wśród nich wyróżnia się dwie rodziny: *Stowaway* i *Tourist*, występujące w genomach roślin w wielu tysiącach kopii. Ta cecha pozwoliła na opracowanie kilku technik markerowych z wykorzystaniem transpozonów MITE, między innymi IMP (ang. *Inter-MITE Polymorphism*) i MITE-TD (MITE Transposon Display). Elementy *Stowaway* charakteryzują się częstymi insercjami w obrębie sekwencji kodujących. Insercje w obrębie intronów mogą prowadzić do znacznego polimorfizmu ich długości, który może być wykorzystany do opracowania kodominacyjnych markerów ILP (ang. *Intron Length Polymorphism*). Autorzy zidentyfikowali ponad 4 000 insercji transpozonów *DcSto* (*Daucus carota Stowaway*) w genomie marchwi. Spośród nich wytypowano 209 miejsc insercji w obrębie krótkich (< 4 kbp) intronów pozbawionych sekwencji repetytywnych i zaprojektowano startery zakotwiczone w sąsiadujących egzonach. Kandydujące markery DcS-ILP zwalidowano przy zastosowaniu techniki EPIC-PCR. Otrzymano 100 markerów DcS-ILP równomiernie rozmieszczonych na 9 chromosomach. Zamplifikowano łącznie 223 allele. Średnia wartość PIC dla opracowanych markerów wyniosła 0.417, obserwowana i oczekiwana heterozygotyczność 0.26. Analiza struktury populacji składającej się z 23 odmian uprawnych o czterech typach korzenia spichrzowego oraz 4 dzikich roślin marchwi z wykorzystaniem opracowanych markerów pozwoliła na wyodrębnienie 2 grup odpowiadających marchwi uprawnej (G1) i dzikiej (G2). W obrębie grupy G1 wyróżniono trzy podgrupy: SG1 obejmującą 5 roślin o typie korzenia Chantenay; SG2 obejmującą 5 roślin o typie korzenia Early Short Horn oraz SG3 obejmującą 12 roślin o typie korzenia Imperator i Danvers oraz jedną Chantenay. Opracowany system markerów DcS-ILP pozwoli na obniżenie kosztu- i czasochłonności genotypowania marchwi poprzez zastosowanie prostej i wydajnej techniki EPIC-PCR.

## WPLYW DŁUGOTERMINOWEJ HODOWLI NA STABILNOŚĆ GENETYCZNĄ SEKWENCJI CRISPR U *ESCHERICHIA COLI*

Anna Walczak<sup>1</sup>, Michał Srebrzyński<sup>1</sup>, Wioletta Adamus-Bialek<sup>2</sup>, Richard Bowater<sup>1</sup>

1) *Molecular Biology Sector, School of Biological Sciences, University of East Anglia,  
Norwich, NR4 7TJ, UK*

2) *Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Katedra Ochrony i Modelowania Środowiska, Kielce, Polska*

*email autora do korespondencji: walczak.anna13@gmail.com, m.srebrzynski@interia.pl*

Wśród wielu organizmów prokariotycznych zidentyfikowano system obronny CRISPR-Cas (*ang. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats coupled with CRISPR-associated proteins*), chroniący przed zewnętrznymi elementami genetycznymi tj. plazmidami i bakteriofagami. Te wysoce konserwatywne, powtarzające się, oddzielone obcymi fragmentami DNA sekwencje, wymagają do funkcjonowania białek kodowanych niezależnie przez geny *cas*. Szlak działania systemu CRISPR-Cas odnajduje analogię w funkcjonowaniu nabytej odpowiedzi immunologicznej u człowieka.

Wiele najnowszych doniesień wskazuje na występowanie niestabilności genetycznej powtarzających się sekwencjach DNA wywołanej przez różne czynniki zewnętrzne. Odnosząc się do dostępnych danych postanowiono zbadać stabilność genetyczną sekwencji CRISPR na przykładzie różnych szczepów *E. coli* podczas ich długotrwałej hodowli. Zważywszy na znaczący wpływ systemów naprawy DNA na stabilność powtarzających się sekwencji DNA do badań wykorzystano szczepy *E. coli* zawierające mutacje w różnych szlakach naprawy DNA.

Eksperyment wykonywano na podstawie wcześniej opisanego protokołu, pasażując w przeciągu czterech dni uzyskane całonocne hodowle. Otrzymane próbki rozcieńczano w sterylnej wodzie, ogrzewano w temperaturze 100°C, a następnie wykorzystywano jako matryce do reakcji PCR dla sekwencji CRISPR1 i CRISPR2 u *E. coli*. Kolejno później uzyskane produkty reakcji PCR analizowano przy pomocy elektroforezy w 1 % żelu agarozowym.

Przeprowadzone badania nie wykazały zmian w stabilności genetycznej sekwencji CRISPR podczas długoczasowej hodowli szczepów *E. coli* zawierających mutacje w różnych szlakach naprawy DNA.

**ADP-RYBOZYLACJA DYSTALNYCH REGIONÓW CIS-REGULATOROWYCH  
CYTOKIN PROZAPALNYCH JAKO MECHANIZM DETERMINUJĄCY ICH  
TRANSKRYPCJĘ W PROZAPALNYCH MAKROFAGACH O FENOTYPIE M1**

Ewelina Wiśnik<sup>\*</sup>, Ewa Pikus, Agnieszka Robaszkiewicz

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: ewelina-wisnik@wp.pl*

W odpowiedzi na wniknięcie obcych dla organizmu patogenów, komórki o fenotypie M1 charakteryzują się wysoką ekspresją cytokin prozapalnych, takich IL1 $\beta$  i TNF $\alpha$ , których podstawową funkcją jest mobilizowanie innych komórek układu immunologicznego do gromadzenia się w miejscu objętym stanem zapalnym. Ekspresja większości mediatorów prozapalnych kontrolowana jest przez kanoniczny szlak NF- $\kappa$ B. Ekspresja pewnej puli genów może być regulowana przez polimerazę poli(ADP-rybozy)1 (PARP1) katalizującą reakcję poli(ADP-rybozylacji) białek zaangażowanych w warunkowanie struktury chromatyny.

Celem pracy było określenie roli procesu ADP-rybozylacji w wiązaniu czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B (p50/p65) w obrębie proksymalnych i dystalnych (wzmacniaczy) regionów *cis*-regulatorowych genów *IL1 $\beta$*  i *TNF $\alpha$* .

Jako model różnicowania makrofagów posłużyły monocyty wyizolowane z krwi obwodowej, różnicowane w makrofagi za pomocą GM-CSF. Eksperymenty wymagające ingerencji w ekspresję genów zostały przeprowadzane na ludzkich unieśmiertnionych monocytach – linia THP1, różnicowanych w makrofagi za pomocą PMA. Za pomocą mieszaniny IFN- $\gamma$ /LPS komórki zostały spolaryzowane w makrofagi M1. Stopień asocjacji dimeru p50/p65 zarówno w prozapalnych makrofagach M1 (stymulowanych endotoksyną – LPS) z inhibowanym (olaparib), jak i obniżonym poziomem białka PARP1 (shRNA), został oznaczony metodą ChIP-qPCR.

Uzyskane wyniki wykazały, że inhibicja i wyciszenie pozostałej w makrofagach M1 puli PARP1 powodują dalszy wzrost poziomu mRNA badanych cytokin przez nasilenie wiązania się dimeru p50/p65 (NF- $\kappa$ B) w obrębie badanych regionów *cis*-regulatorowych genów *IL1 $\beta$*  i *TNF $\alpha$*  w odpowiedzi na działanie bakteryjnej endotoksyny.

*Praca została sfinansowana z grantu Narodowego Centrum Nauki (UMO-2013/11/D/NZ2/00033 – Agnieszka Robaszkiewicz, kierownik projektu).*

## **WPLYW TERPENOIDÓW NA AKTYWNOŚĆ TRANSPORTOWĄ BIAŁEK ABCB1 I ABCG2 W KOMÓRKACH SW620 I MDCKII**

Dominika Wojciechowska<sup>\*</sup>, Mariusz Żuberek, Agnieszka Grzelak, Grzegorz Bartosz

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biologii Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: d.wojciechowska4@gmail.com*

Białka ABC (ATP-Binding Cassette Proteins) transportują różne substancje przez błonę komórkową wbrew gradientowi stężeń. W tym celu wykorzystują energię pochodzącą z hydrolizy ATP. Ponad 20 białek ABC, reprezentujących wszystkie podgrupy, zostało powiązanych z ludzkimi chorobami, np. ABCA1 i ABCA7 z chorobą Alzheimera, ABCC8 i ABCC9 z cukrzycą. ABCB1/P-gp, ABCC1/MRP1 i ABCG2/BCRP odgrywają istotną rolę w oporności wielolekowej w komórkach nowotworowych.

Jednakże, białka te najprawdopodobniej wyewoluowały jako złożony system obronny, a ich nadrzędną fizjologiczną funkcją jest ochrona komórek przed ksenobiotykami. Wymienione powyżej białka (ABCB1 i ABCG2) ulegają ekspresji także w komórkach nabłonkowych jelita, gdzie ograniczają wchłanianie leków i toksyn pobranych drogą doustną. Wykazano, iż zahamowanie działania P-gp w jelicie cienkim poprzez ekstrakty soku grejpfrutowego i pomarańczowego zwiększało biodostępność różnych leków.

Terpenoidy są dużą i strukturalnie różnorodną grupą związków naturalnych. Wiele z nich jest składnikiem leków ziołowych, ze względu na posiadane przez nie właściwości biologiczne, takie jak: antyoksydacyjne, antymikrobiologiczne, przeciwrzybicze czy przeciwnowotworowe. Terpenoidy, takie jak paklitaksel, cytronellal, kwas abietynowy czy kwas glicyretowy mogą być substratami lub inhibitorami P-gp. Ponadto, kwas abietynowy i glicyretowy silnie hamują działanie MRP2 i BCRP. Jako że biodostępność leków jest niezwykle ważnym czynnikiem, również inne terpenoidy, które mogłyby hamować działanie białek ABC, powinny być zbadane.

W niniejszej pracy oceniono wpływ dziewięciu terpenoidów na transport zależny od P-gp i BCRP w komórkach SW620 i selektantach oraz MDCKII i transfektantach. Sprawdzone również wpływ tych związków na ciągłość i płynność błony oraz przeżywalność badanych komórek.

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI APARATU FOTOSYNTETYCZNEGO W WYBRANYCH EKOTYPACH I MUTANTACH *ARABIDOPSIS THALIANA*

Joanna Wójtowicz\*, Katarzyna Gieczewska, Agnieszka Mostowska

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

email autora do korespondencji\*: j.wojtowicz@biol.uw.edu.pl

*Arabidopsis thaliana* jako gatunek roślin o szerokim zakresie geograficznym charakteryzuje się ogromnym zróżnicowaniem form oraz niebywałymi zdolnościami przystosowawczymi, wynikającymi prawdopodobnie ze zmian w strukturze i funkcjonalności chloroplastów - pierwszych markerów działania stresu u roślin <sup>[1]</sup>. Przeprowadzone wcześniej badania nad naturalną zmiennością genetyczną w procesie fotosyntezy, dotyczące charakterystyki wybranych ekotypów *A. thaliana* wykazały znaczne różnice w funkcjonalności aparatu fotosyntetycznego między roślinami [BioOpen 2015].

Celem pracy jest próba porównania wydajności oraz właściwości spektralnych aparatu fotosyntetycznego w wybranych ekotypach i mutantach *Arabidopsis thaliana*. Do badań wykorzystane zostaną wyselekcjonowane ekotypy *Arabidopsis thaliana* oraz odpowiadające im mutanty. Rośliny uprawiane były w 8-godzinym fotoperiodzie (24/18°C) przez okres 8-10 tygodni. Analizę różnic w wydajności fotosyntetycznej określono stosując analizę pomiaru fluorescencji chlorofilu *a* z liścia *in vivo* z zastosowaniem fluorometru DualPAM firmy Heinz-Walz. Pomiar niskotemperaturowej (77K) fluorescencji izolowanych tylakoidów umożliwił zbadanie i scharakteryzowanie specyfiki układów fotosyntetycznych. Natomiast do głębszego poznania oddziaływań pomiędzy białkami a lipidami w tylakoidach roślin zastosowano spektroskopię absorpcyjną w zakresie podczerwieni (FTIR).

W wytworzonym w ten sposób „układzie porównawczym” wykazano różnice w wydajności i pomiarach spektralnych aparatu fotosyntetycznego pomiędzy roślinami, co przybliżyło poznanie specyfiki układów fotosyntetycznych u poszczególnych roślin *Arabidopsis thaliana*.

Przedstawione wyniki finansowane były z projektu DSM 2015/2016 110 147 (JW).

<sup>[1]</sup> Yin L. et al (2012) Photosystem II Function and Dynamics in Three Widely Used *Arabidopsis thaliana* Accessions. PLoS ONE 7

## WPLYW INTERFERENCJI RNA EZH2 NA EKSPRESJĘ ENZYMÓW ZWIĄZANYCH Z O-GLCNAcyLACJĄ BIAŁEK

Agnieszka Zaczek<sup>\*</sup>, Paweł Józwiak

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Cytobiochemii,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [zaczeka@biol.uni.lodz.pl](mailto:zaczeka@biol.uni.lodz.pl)

Białka Polycomb są represorami genów i wchodzą w skład kompleksów represyjnych PRC1 i PRC2 (*Polycomb repressive complex*). Kompleksy te odpowiedzialne są za modyfikację ogonów histonów zlokalizowanych w pobliżu miejsc promotorowych określonych genów docelowych, co wiąże się ze zmianą struktury chromatyny prowadzącą do zahamowania transkrypcji. Jednym z składników kompleksu PRC2 jest metylotransferaza EZH2 (*enhancer of zeste homolog 2*) odpowiadająca za metylację lizyny 27 histonu H3. Wyniki wielu badań wskazują na związek między enzymami odpowiedzialnymi za O-GlcNAcyzację białek takimi jak O-GlcNAc transferaza (OGT), enzym odpowiedzialny za przyłączanie reszt N-acetyloglukozaminy i β-N-acetyloglukozaminidaza (OGA), katalizująca reakcję odłączania reszt GlcNAc, a EZH2.

W związku z tym celem badań było określenie wpływu obniżonej ekspresji EZH2 na ekspresję enzymów związanych z O-GlcNAcyzacją białek na poziomie mRNA techniką Real Time PCR i białka metodą Western blotting w komórkach raka piersi linii MCF-7, MDA-MB-231, HS578T oraz w komórkach nienowotworowych gruczołu sutkowego linii MCF-10A. Ekspresję *EZH2* obniżano poprzez interferencję RNA z zastosowaniem dupleksów siRNA specyficznych dla *EZH2* oraz odczynnika Lipofectamine RNAiMAX. Kontrolę stanowiły dupleksy siRNA o sekwencji nie wykazującej homologii do genów człowieka. Efektywność wyciszenia *EZH2* na poziomie mRNA określono techniką RT-PCR oraz poprzez analizę ekspresji białka metodą Western blotting.

W badaniach wykazano zależność między wyciszeniem EZH2, a ekspresją OGT na poziomie mRNA jedynie w linii komórkowej MCF-7. Nie stwierdzono jednak istotnych zmian poziomu białka OGT po wyciszeniu ekspresji EZH2. Natomiast znaczący wzrost ekspresji OGA zarówno na poziomie mRNA jak i na poziomie białka stwierdzono w komórkach linii MDA-MB-231. Zaobserwowano również wzrost poziomu białka OGA w komórkach linii MCF-7.

Otrzymane wyniki badań wskazują, że obniżona ekspresja EZH2, może mieć istotny wpływ na ekspresję OGA w niektórych komórkach raka piersi.

## NOWE METODY PRZYPISANIA SYGNAŁÓW W WIDMACH NMR BIAŁEK NIEZWINIĘTYCH NA PRZYKŁADZIE BIAŁKA TAU3X

Szymon Żerko<sup>1\*</sup>, Paweł Włodarczyk-Pruszyński<sup>1</sup>, Piotr Byrski<sup>1</sup>, Michał Górka<sup>1</sup>, Karin Ledolter<sup>2</sup>,  
Eliezer Masliah<sup>3</sup>, Robert Konrat<sup>2</sup>, Wiktor Koźmiński<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii, Centrum Badań Biologiczno-Chemicznych,  
Żwirki i Wigury 101, 02-089 Warszawa, Polska

2) Department of Computational and Structural Biology, Max F. Perutz Laboratories, University of Vienna,  
Campus Vienna Biocenter 5, 1030 Vienna, Austria

3) UC San Diego School of Medicine, 9500 Gilman Drive, CA 92093-0662, La Jolla, USA

email autora do korespondencji\*: [szerko@chem.uw.edu.pl](mailto:szerko@chem.uw.edu.pl)

Patogeneza wielu chorób, w szczególności neurodegeneracyjnych, jest powiązana z funkcjami i zachowaniem białek niezwinionych (ang. *intrinsically disordered proteins*). Badania strukturalne z rozdzielczością atomową takich białek, ze względu na ich nieuporządkowany charakter powodującą niemożliwość uzyskania kryształów, są przeprowadzane głównie z użyciem spektroskopii NMR. Pierwszym etapem prac jest przypisanie sygnałów w widmach NMR odpowiadającym im poszczególnym atomom białka. Przedstawicielem białek niezwinionych jest między innymi białko Tau3x, jedno z białek tau (ang. *microtubule associated protein tau*), którego zachowanie łączy się między innymi z rozwojem choroby Alzheimera.

Zastosowanie standardowej strategii przypisania sygnałów wykorzystującej zestaw widm pięciowymiarowych przyniosło pozytywne rezultaty, jednakże pełne przypisanie sygnałów łańcucha głównego nie zostało osiągnięte. Brakujące przypisanie skupione były w bogatych w proliny fragmentach sekwencji białka. Celem przeprowadzonych badań było rozwiniecie nowej, efektywniejszej strategii przypisania sygnałów.

Zaprojektowano i zastosowano dwa nowe, komplementarne względem siebie, czterowymiarowe eksperymenty spektroskopii NMR: (HACA)CO(NCO)CONH oraz (HACACO)N(CO)CONH. Ich główną cechą charakterystyczną jest wykorzystanie przeniesienia magnetyzacji bezpośrednio pomiędzy węglami karbonyłowymi z wykorzystaniem homojądrowego transferu Hartmanna-Hahna. Zastosowanie wymienionych eksperymentów pozwoliło na praktycznie pełne przypisanie sygnałów łańcucha głównego.

# **STRESZCZENIA**

## **Sesja**

### **Biologia w medycynie i przemyśle**



**DROBNOUSTROJE...NASZYMI SPRZYMIERZĘCAMI?**

Prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim

*Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Nauki o Żywności,*

*Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności*

Otoczający nas „świat” drobnoustrojów jest różnorodny, bogaty, nie przemierzony i wciąż budzący nasze zainteresowanie. Poznając „możliwości” drobnych - niewidzialnych i widzialnych gołym okiem – istot staramy się zastosować /wkomponować, naszych sprzymierzeńców do zrealizowania marzeń naukowych. Poszukujemy wciąż nowych wydajnych szczepów o znaczeniu przemysłowym. Komponujemy nowe, składające się z najaktywniejszych drobnoustrojów, kultury starterowe, dzięki którym wzbogacamy asortyment żywności zarówno pochodzenia roślinnego jak i zwierzęcego. Przy czym głównym celem jest bezpieczeństwo i zdrowie konsumenta. Stosujemy nowe uszlachetnione szczepy do biosyntezy kwasów organicznych, bakteriocyn i innych przeciwdrobnoustrojowych metabolitów. Umiejętna współpraca z drobnoustrojami – ich komórkami lub metabolitami – stawia nowe wyzwania, a ich realizacja, dzięki szerokiemu warsztatowi badawczemu wydaje nam się całkowicie realna. Czy zawsze potrafimy, dysponując wiedzą i umiejętnościami zastosować drobnoustroje w naszych działaniach mając na uwadze bezpieczeństwo. Stosowane technologie pozyskiwania surowców pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, jak również nowoczesne technologie nie gwarantują w 100% inaktywacji drobnoustrojów niepożądanych w produktach spożywczych. Stąd też może dochodzić do wad spowodowanych przez komórki lub enzymy drobnoustrojów. Czy potrafimy – bez ujemnych skutków – stosować drobnoustroje? Czy drobnoustroje są naszymi sprzymierzeńcami?

**WPLYW PODSTAWNIKÓW W POZYCJI N<sup>7</sup> GUANINY ANALOGÓW KAPU  
NA POWINOWACTWO I MECHANIZM WIĄZANIA DO IZOFORM LUDZKIEGO  
CZYNNIKA INICJACJI TRANSLACJI eIF4E**

Mateusz Dobrowolski<sup>1\*</sup>, Kaja Fac<sup>2</sup>, Dorota Kubacka<sup>1</sup>, Jacek Jemielity<sup>3</sup>, Janusz Stępiński<sup>1</sup>,  
Edward Darżynkiewicz<sup>1,3</sup>, Joanna Żuberek<sup>1</sup>

*1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki, Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki Doświadczalnej,  
ul. Żwirki i Wigury 93, 02-089 Warszawa*

*2) Uniwersytet Warszawski, Kolegium Międzywydziałowych Indywidualnych Studiów Matematyczno-  
Przyrodniczych, ul. Stefana Banacha 2c, 02-097 Warszawa*

*3) Uniwersytet Warszawski, Centrum Nowych Technologii, ul. Stefana Banacha 2c, 02-097 Warszawa*

*email autora do korespondencji\*: mdobrowolski@biogeo.uw.edu.pl*

Białko eIF4E, wiążąc kap znajdujący się na końcu 5' mRNA, pełni kluczową rolę w procesie inicjacji translacji zależnej od kapu. Nadekspresję eIF4E zaobserwowano w wielu komórkach nowotworowych, dlatego też białko to stanowi potencjalny cel w terapii przeciwnowotworowej. Ostatnio jako potencjalne terapeutyki antynowotworowe w komórkach nowotworowych o podwyższonej ekspresji eIF4E z powodzeniem testowane są modyfikowane analogi kapu z grupą benzyłową w pozycji N<sup>7</sup> guaniny. Zaobserwowano, że wprowadzenie grupy benzyłowej powoduje istotne zmiany we wnętrzu wiążącej kanonicznej izoformy eIF4E1a. W mojej pracy zbadałem powinowactwo mononukleotydowych analogów kapu n<sup>7</sup>GTP oraz dinukleotydowych analogów kapu n<sup>7</sup>GpppG, z grupą metylową, etylową, benzyłową, 1-naftyłową i 2-naftyłową w pozycji N<sup>7</sup> do izoform ludzkiego białka eIF4E: eIF4E1a, eIF4E1b, eIF4E2 (4EHP) oraz eIF4E3. Stosując metodę miareczkowania fluorescencyjnego synchronizowanego w czasie wyznaczyłem stałe asocjacji dla kompleksów z analogami kapu wszystkich czterech izoform. Uzyskane wyniki pokazały podobne powinowactwo metylowych, etylowych i benzyłowych analogów kapu do kanonicznego czynnika inicjacji translacji 4E (eIF4E1a) oraz jego izoform eIF4E2 i eIF4E3, zaś izoforma eIF4E1b wykazuje zaskakująco wysokie powinowactwo do benzyłowych oraz naftyłowych analogów kapu. Dodatkowo wykonałem pomiary widm CD w zakresie bliskiego nadfioletu z wykorzystaniem mononukleotydowych analogów kapu, które wskazują, że w wyniku tworzenia kompleksu białko-cap w izoformach eIF4E zachodzą różne zmiany konformacyjne tryptofanów jak i ich otoczenia, zależne od grupy wprowadzonej w pozycji N<sup>7</sup> guaniny analogu kapu.

**HAPLOIDENTYCZNY PRZESZCZEP KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH  
PO DEPLECJI LIMFOCYTÓW  $\alpha/\beta$  TCR JAKO POTENCJALNA OPCJA  
TERAPEUTYCZNA W PRZYPADKU BRAKU DAWCY ZGODNEGO W HLA**

Kornelia Gajek<sup>1\*</sup>, Benita Kostrzewa<sup>2</sup>, Marek Ussowicz<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

2) Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [kornelia\\_gajek@hotmail.com](mailto:kornelia_gajek@hotmail.com)

W Światowym Banku Dawców Szpiku (BMDW) znajduje się obecnie ponad 27 milionów potencjalnych niespokrewnionych dawców komórek hematopoetycznych, ale nie zawsze udaje się znaleźć dawcę idealnie dopasowanego pod względem antygenów HLA. Jedyną opcją terapeutyczną w takim przypadku może być przeszczep od dawcy częściowo zgodnego (tzw. przeszczep haploidentyczny). Metoda ta wiąże się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia choroby „przeszczep przeciwko gospodarzowi” (GvHD, ang. *Graft versus Host Disease*), czemu można zapobiec stosując zaawansowane metody preparatyki komórkowej, m.in. poprzez usunięcie *ex vivo* wszystkich limfocytów T lub tylko tych wykazujących ekspresję receptora  $\alpha/\beta$  TCR. Manipulacja materiałem przeszczepowym wpływa na kinetykę odnowy limfocytarnej po przeszczepieniu, a przez to oddziałuje na przyjęcie się przeszczepu, ryzyko wznowy choroby, zakażenia, czy GvHD.

W Klinice Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, w latach 2013-15 wykonano 11 przeszczepień komórek hematopoetycznych od dawców częściowo zgodnych, po przeprowadzeniu deplecji limfocytów  $\alpha/\beta$  TCR. W okresie do roku od przeszczepienia, monitorowano odnowę limfocytów T, B i NK. Liczbę odnawiających się limfocytów T, B i NK u pacjentów po deplecji  $\alpha/\beta$  TCR porównano z wynikami grupy kontrolnej ( $n=14$ ), którą stanowili pacjenci po przeszczepie od zgodnych dawców niespokrewnionych. Brak statystycznie istotnych różnic w liczbie limfocytów poszczególnych linii, w zestawieniu z obrazem klinicznym pacjentów, a także rodzajem kondycjonowania przed i immunosupresji po przeszczepie HSCT, pozwala potwierdzić zasadność stosowania deplecji limfocytów  $\alpha/\beta$  TCR w przypadku przeszczepiania komórek hematopoetycznych od dawców haploidentycznych.

**PAŁECZKI NIEFERMENTUJĄCE WYIZOLOWANE ZE ŚRODOWISKA PRZEMYSŁU  
KOSMETYCZNEGO – BIOFILM BAKTERYJNY I WRAŻLIWOŚĆ  
NA ŚRODKI DEZYNFEKCYJNE**

Katarzyna Molska<sup>1\*</sup>, Kamila Korzekwa<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Zakład Chorób Ptaków, Zwierząt Egzotycznych, Futerkowych i Laboratoryjnych Katedry Epizootiologii z Kliniką Ptaków i Zwierząt Egzotycznych, ul. Plac Grunwaldzki 45, 50-366 Wrocław

2) Uniwersytet Wrocławski, Zakład Mikrobiologii Instytutu Genetyki i Mikrobiologii, ul. S. Przybyszewskiego 63, 51-148 Wrocław

email autora do korespondencji\*: katarzyna.molska@up.wroc.pl

Rosnące wymagania konsumentów co do bezpieczeństwa kosmetyków, wymusiły na przedsiębiorstwach wprowadzenie ujednoliconych systemów gwarantujących, że dany produkt będzie wolny od zanieczyszczeń chemicznych, a przede wszystkim mikrobiologicznych. Stosowane konserwanty nie gwarantują całkowitej ochrony kosmetyku, dlatego niezwykle istotna jest kontrola środowiska przemysłowego a także stosowanie skutecznych metod dezynfekcji.

Określenie skuteczności i spektrum działania środków dezynfekcyjnych używanych na co dzień w zakładach przemysłu kosmetycznego wobec szczepów pałeczek niefermentujących wyizolowanych ze środowiska, jest istotnym aspektem kontroli mikrobiologicznej. Przebadane środki różniły się między sobą substancjami czynnymi: dwutlenek chloru, czwartorzędowe związki aminowe, kwacnadoctowy, nadtlenuk wodoru, aldehyd glutarowy oraz anionowe i niejonowe związki powierzchniowo czynne. Wyizolowane szczepy należały do rodzajów: *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Delftia* oraz *Acinetobacter*. Mimo, że wszystkie badane środki wykazują skuteczność wobec wyizolowanych szczepów pałeczek niefermentujących, najskuteczniejszym okazał się środek na bazie kwasu nadactowego.

W pracy określono lekowrażliwość szczepów wobec antybiotyków zalecanych przez EUCAST. Dodatkowo dowiedziono, iż wszystkie wyizolowane bakterie środowiskowe tworzą biofilm, choć nie z taką samą intensywnością – najintensywniej dwa szczepy *Pseudomonasaeruginosa* i szczep *Acinetobacterbaumannii*. Badane środki dezynfekcyjne wykazały skuteczność wobec biofilmujących szczepów, choć w różnym stopniu i spektrum. Wykonane mikrofotografie przy użyciu SEM, ukazały specyficzną strukturę tworzącego się na czujnikach kwarcowych biofilmu szczepów *Pseudomonas aeruginosa*.

**WPŁYW KOMÓREK MSC IZOLOWANYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ  
NA POWSTAWANIE NACZYŃ KRWIONOŚNYCH W MODELU NIEDOTLENIONEJ  
KOŃCZINY U MYSZY**

Ewelina Pilny<sup>1,2\*</sup>, Tomasz Cichon<sup>2</sup>

1) Politechnika Śląska, Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii,  
ul. Krzywoustego 8, 44-100 Gliwice

2) Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im.  
Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

*email autora do korespondencji\*: ewelina.pilny@polsl.pl*

Mezenchymalne komórki zrębu (MSC) to multipotencjalne komórki niehematopoetyczne, których źródłem są tkanki pochodzenia mezodermalnego takie jak szpik kostny czy tkanka tłuszczowa. Komórki te posiadają właściwości immunomodulujące, wytwarzają szereg czynników wzrostu i cytokin, a także wykazują tropizm do rejonów objętych reakcją zapalną. Tkanka tłuszczowa jest dobrym i łatwo dostępnym źródłem MSC. Zawartość tych komórek w tkance tłuszczowej wynosi ok. 1%.

Celem niniejszej pracy było zbadanie na modelu niedotlenionej kończyny u myszy wpływu komórek MSC izolowanych z ludzkiej tkanki tłuszczowej – hADSC (ang. *human Adipose Derived Stromal Cells*) na proces powstawania nowych naczyń krwionośnych.

W celu uzyskania pożądanej populacji komórek wykorzystano metodę trawienia tkanki tłuszczowej (pozyskiwanej śródoperacyjnie z okolic brzucha) roztworem kolagenazy. Fenotyp wyizolowanych komórek sprawdzano za pomocą cytometrii przepływowej. Model niedotlenionej kończyny u myszy uzyskano podwiązując tętnicę udową. Komórki ADSC wraz z próbą kontrolną, którą stanowił PBS<sup>-</sup> podawano godzinę po zabiegu. Sprawność kończyn oceniano co 2-3 dni. Po 14 dniach od zabiegu chirurgicznego pobierano mięsień łydki myszy i poddawano go dalszym analizom. Ilość naczyń badano przy użyciu immunohistochemicznej reakcji identyfikującej antygen CD31.

Wyizolowane komórki posiadały fenotyp: CD105<sup>+</sup>/CD90<sup>+</sup>/CD73<sup>+</sup>/CD44<sup>+</sup>/CD29<sup>+</sup>/CD146<sup>+</sup> i CD45<sup>-</sup>/CD34<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>/KDR<sup>-</sup>/CD31<sup>-</sup>. Główną cytokiną wytwarzaną przez komórki hADSC była interleukina 6 (IL-6). Po zliczeniu wybarwionych immunohistochemicznie (CD31) naczyń w skrawkach tkanek pochodzących z niedotlenionej kończyny u myszy zauważono wzrost liczby naczyń w stosunku do grupy kontrolnej. Zaobserwowano także poprawę sprawności kończyny, w której podwiązano tętnicę udową po podaniu komórek hADSC.

## WŁAŚCIWOŚCI RADIOOCHRONNE KONIUGATÓW POLIFENOLOWO – POLISACHARYDOWYCH Z WYBRANYCH ROŚLIN LECZNICZYCH

Magdalena Szejka<sup>1\*</sup>, Alicja Klaudia Olejnik<sup>2</sup>, Halina Małgorzata Żbikowska<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

2) Politechnika Łódzka, Wydział Chemii, Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej,  
ul. Wróblewskiego 15, 93-590 Łódź

*email autora do korespondencji*<sup>\*</sup>: szejkm@biol.uni.lodz.pl

Promieniowanie fal elektromagnetycznych, korpuskularne czy mieszane jest nieustannie obecne w życiu człowieka. Jonizacja towarzysząca promieniowaniu jest niebezpieczna dla zdrowia człowieka, indukuje stres oksydacyjny, który może uszkadzać białka, lipidy błonowe, DNA oraz RNA. Jednak promieniowanie jonizujące stosowane w sposób kontrolowany znalazło zastosowanie w medycynie, zarówno w celach diagnostycznych (badania rentgenowskie), jak i leczniczych (radioterapia). Precyzyjnie dobrana dawka promieniowania oraz ochrona otaczających komórek nienowotworowych zapewnia bezpieczeństwo podczas leczenia pacjentów onkologicznych. Istotną rolę w zapewnieniu ochrony, pełnią substancje o właściwościach radioochronnych, podane pacjentowi podczas radioterapii. Spośród wielu badanych związków chemicznych dobrymi kandydatami na radioprotektory są naturalne związki uzyskiwane z roślin oraz ziół. Związki roślinne w porównaniu z syntetycznymi (m. in. tiolowymi), są bezpieczniejsze, mniej toksyczne, tańsze w pozyskiwaniu. Większość związków roślinnych charakteryzuje też długi okres półtrwania oraz brak oddziaływania z szeroką gamą innych leków podawanych w trakcie terapii. Radioochronne działanie związków roślinnych oparte jest na silnym działaniu antyoksydacyjnym, tj. hamowanie generowania RFT, usuwanie powstałych rodników, czy chelatowanie jonów metali. Zastosowanie związków roślinnych, jako radioprotektory mogłoby ograniczać uszkodzenia popromienne, a także zmniejszać ryzyko występowania nowotworów wtórnych u pacjentów po radioterapii.

Celem badań było określenie wpływu koniugatów polifenolowo-polisacharydowych izolowanych z wybranych roślin leczniczych tj. krwiościąg lekarski, przymiotno kanadyjskie, poziomka pospolita oraz jeżyna fałdowana (1-25 µg/ml) na indukowane promieniowaniem gamma (10 i 15 Gy) uszkodzenia DNA w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej człowieka (PMBCs). Uszkodzenia DNA oceniano na podstawie testu kometowego.

Wyniki wskazują, że badane koniugaty polifenolowo-polisacharydowe wykazują właściwości radioochronne, chronią DNA PMBCs przed genotoksycznym działaniem promieniowania gamma.

**WPLYW KANNABIDIOLU ORAZ EKSTRAKTÓW Z ROŚLIN *CANNABIS SATIVA*  
NA ŻYWOTNOŚĆ I MORFOLOGIĘ WYBRANYCH LINII  
KOMÓREK NOWOTWOROWYCH**

Paweł Śledziński<sup>1</sup>, Agnieszka Nowak<sup>1</sup>, Joanna Zeyland<sup>1</sup>, Ryszard Słomski<sup>1,2</sup>

1) Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Biochemii i Biotechnologii, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

2) Instytut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu, ul. Strzeszyńska 32, 60-479 Poznań

email autora do korespondencji\*: pawel717@gmail.com

Kannabidiol (CBD) oraz  $\Delta^9$ -tetrahydrokannabinol (THC) stanowią główne kannabinoidy zidentyfikowane w roślinach z rodzaju *Cannabis*. THC jest agonistą dwóch receptorów z grupy receptorów siedmiotransbłonowych: CB1 i CB2, będących elementami systemu endokannabinoidowego, który jest zaangażowany m.in. w regulację procesów proliferacji, różnicowania oraz apoptozy komórek. Kannabidiol, w przeciwieństwie do THC wykazuje bardzo niskie powinowactwo do receptorów CB1 obecnych głównie w obrębie centralnego układu nerwowego, co powoduje, że jest pozbawiony właściwości psychoaktywnych. Z tego powodu substancja ta skupia na sobie coraz większą uwagę badaczy, jednak jej wpływ na szlaki metaboliczne nadal nie jest do końca wyjaśniony.

Kannabinoidy jak dotąd znalazły zastosowanie w medycynie paliatywnej, istnieje jednak nowe podejście, polegające na wykorzystywaniu ich w celu hamowania proliferacji i rozwoju komórek nowotworowych. Wpływ kannabinoidów na nowotwory jest zróżnicowany. Eksperymenty *in vitro* oraz *in vivo* dowiodły działania zarówno hamującego, jak i indukującego proliferację komórek nowotworowych w zależności od zastosowanego kannabinoidu, jego stężenia oraz typu nowotworu.

Cele badawcze: analiza zmian zachodzących w komórkach nowotworowych w wyniku ekspozycji na kannabidiol oraz ekstrakty z roślin *Cannabis sativa* o różnych stężeniach: określenie zmian poziomu proliferacji, aktywności apoptotycznej, autofagii oraz zmian w morfologii komórek, a także analiza pośredniczenia reaktywnych form tlenu (ROS) w aktywności kannabinoidów. Badaniom zostaną poddane linie komórkowe raka piersi (MDA-MB-231) oraz raka prostaty (PC-3).

## ERADYKACJA BIOFILMU BAKTERII OPORTUNISTYCZNYCH W OBECNOŚCI NATURALNYCH DEZYNFEKTANTÓW

Julia Zabielska\*, Alina Kunicka-Styczyńska

Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

email autora do korespondencji\*: [julia.zabielska@dokt.p.lodz.pl](mailto:julia.zabielska@dokt.p.lodz.pl)

Ze względu na rosnącą oporność na antybiotyki oraz powszechnie stosowane dezynfektanty, zagrożenie stanowią bakterie zdolne do kolonizowania zarówno powierzchni biotycznych, jak i abiotycznych, głównie w formie biofilmu. Szacuje się, że ok. 70% spośród infekcji jest wiązana z biofilmami bakteryjnymi, które stanowią powszechne zagrożenie w środowisku szpitalnym, kolonizując sprzęt medyczny t. jak katetery, stenty, rurki intubacyjne czy implanty. Poszukuje się skutecznej alternatywy dezynfektantów chemicznych wśród substancji pochodzenia roślinnego, m. in. olejków eterycznych, których właściwości bakterio- i grzybobójcze są znane od wieków.

Celem przeprowadzonych badań ocena eradykacji biofilmu utworzonego przez gram-ujemne pałeczki na powierzchni polistyrenowej z wykorzystaniem olejków eterycznych: cynamonowego, goździkowego, drzewa herbacianego, manuka i kanuka. Do badań użyto olejków komercyjnych (Pollena Aroma S.A., Warszawa) oraz 9 szczepów środowiskowych (6-*Pseudomonas aeruginosa*, 2-*Serratia liquefaciens*, 1-*Burkholderia cepacia*), wyizolowanych z kosmetyków i potencjalnych konserwantów kosmetycznych oraz szczepu referencyjnego *Pseudomonas aeruginosa* ATCC15442. 24-godzinny biofilm, wyhodowany w pożywce TSB (Merck) w temp. 30°C w 96-dołkowych płytkach polistyrenowych, zalewano olejkiem zmieszany z pożywką TSB w odpowiednim stężeniu ( $\frac{1}{2}$ MIC, MIC i 2MIC, gdzie wartości MIC zostały uprzednio wyznaczone dla form planktonowych bakterii). Po 24 godzinach biofilm powstały na powierzchni polistyrenu wybarwiano 0,5% roztworem fioletu krystalicznego i mierzono absorbancję przy długości fali 570 nm. Próbę kontrolną stanowiły hodowle nie zawierające olejku eterycznego.

Wyniki uzyskane w badaniach wskazują na wysoką efektywność olejków w eradykacji dojrzałego biofilmu, nawet już w stężeniu równym  $\frac{1}{2}$ MIC (w zależności od użytego olejku, jego stężenia oraz badanego szczepu).



**EKSPRESJA KATELICYDINY LL-37 I W SUROWICY CHORYCH****Z INFЕКcją *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***

Karol Majewski, Justyna Agier<sup>\*</sup>, Paulina Żelechowska, Elżbieta Kozłowska, Karolina Wódz

Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Immunologii Doświadczalnej, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

email autora do korespondencji <sup>\*</sup>: justyna.agier@stud.umed.lodz.pl

U dorosłych, szczególnie powyżej 45 roku życia, częstym czynnikiem etiologicznym zakażeń dolnych dróg oddechowych są prątki gruźlicy – *Mycobacterium tuberculosis*. Należy zwrócić uwagę, że mimo bardzo szybkiego rozprzestrzeniania się tego drobnoustroju, nie u wszystkich zakażonych osób rozwija się pełnoobjawowa gruźlica. Odpowiedź obronna organizmu na infekcję *M. tuberculosis* jest różnokierunkowa. Z pewnością, istotnymi elementami mechanizmów obronnych są peptydy przeciwdrobnoustrojowe, w szczególności katelicydyny, oraz cytokiny w tym m.in. czynnik martwicy nowotworu (TNF). Dostępne dane wskazują, że poziom wytwarzania TNF i katelicydyny LL-37 może istotnie oddziaływać na inicjację procesu zapalnego, przebieg infekcji, a także jej intensywność oraz czas trwania. Dlatego celem tej pracy była ocena stężenia katelicydyny LL-37 i TNF w surowicy krwi osób z czynną gruźlicą płuc.

Badania przeprowadzono na grupie 47 dorosłych pacjentów z czynną gruźlicą płuc, którą potwierdzono metodami klasycznej bakteriologii i dodatnim rozmazem płwociny. U wszystkich osób wykonano badania laboratoryjne, w tym morfologię pełną, wskaźniki wątrobowe, wskaźniki nerkowe, poziom CRP oraz elektrolity. Grupę kontrolną stanowiło 41 osób zdrowych. Stężenie katelicydyny LL-37 i TNF w surowicy oceniano metodą immunoenzymatyczną ELISA.

Poziom katelicydyny LL-37 u pacjentów z czynną gruźlicą płuc wynosił 13,29 ng/ml. Średni poziom katelicydyny LL-37 w surowicy osób zdrowych był znamienne niższy i wynosił 5,76 ng/ml. Stężenie TNF w surowicy osób chorych wynosiło 8,51 pg/ml, a w grupie porównawczej osób zdrowych 2,91 pg/ml.

Uzyskane wyniki pozwalają na sformułowanie wniosku, iż w trakcie infekcji *M. tuberculosis* dochodzi do zwiększenia poziomu katelicydyny LL-37 oraz TNF w surowicy.

Praca finansowana z grantu: 502-03/6-164-01/502-64-083.

**ZMIENNOŚĆ GENU *UBC9* U KOBIET W POPULACJI POLSKIEJ**

**Piotr Bialik<sup>1\*</sup>**, Agata Kucińska<sup>1</sup>, Marcin Słomka<sup>2</sup>, Małgorzata Korycka-Machała<sup>3</sup>,  
Dominik Strapagiel<sup>2</sup>, Katarzyna Woźniak<sup>1\*</sup>

- 1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Genetyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
- 2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
Pracownia Biobank, ul. Piłarskiego 14/16, 90-231 Łódź
- 3) Polska Akademia Nauk, Instytut Biologii Medycznej, ul. Lodowa 106, 93-232 Łódź

email autora do korespondencji\*: pbialik@biol.uni.lodz.pl

Potranslacyjna modyfikacja białek zwana sumoilacją jest procesem odgrywającym ważną rolę w zachowaniu homeostazy komórki. Polega ona na przyłączeniu do określonego białka niewielkiego polipeptydu, podobnego do ubikwityny, zwanego białkiem SUMO (ang. *small ubiquitin-like modifier*). Czynnikiem kluczowym w sumoilacji jest białko UBC9 (ang. *ubiquitin conjugating enzyme E2f*), które rozpoznaje substrat i katalizuje utworzenie wiązania izopeptydowego między grupą karboksylową na C-końcu białka SUMO i grupą ε-aminową lizyny w białku docelowym. Modyfikowane białko uzyskuje nowe funkcje, zmienia się jego aktywność oraz możliwości migracyjne. Liczne badania wykazały, że gen *UBC9* ulega nadekspresji w wielu nowotworach złośliwych – w raku jajnika, piersi, płuca, głowy i szyi oraz w czerniaku.

Celem badań było określenie zmienności genetycznej *UBC9* u zdrowych kobiet w populacji polskiej. Przeprowadzona analiza stanowi punkt odniesienia do dalszych badań mających na celu określenie wpływu wybranych wariantów polimorficznych genu *UBC9* na ryzyko raka piersi.

Badania przeprowadzono wykorzystując materiał genetyczny wyizolowany ze śliny 95 zdrowych kobiet. Analizę zmienności genu *UBC9* wykonano za pomocą techniki HRM (ang. *High Resolution Melting*). Skanowaniu poddano 6 z 7 eksonów genu *UBC9*, wraz z co najmniej 20 nukleotydowymi, intronowymi sekwencjami flankującymi. Następnie do weryfikacji topnienia za pomocą metody sekwencjonowania bezpośredniego, wytypowano na podstawie profili krzywych topnienia reprezentatywne próbki dla każdego profilu. Dzięki temu, zweryfikowano zgodność topnienia w metodzie HRM i ustalono genotyp w skanowanych obszarach dla każdej próbki.

W trakcie prowadzonych badań nie wykazano obecności nowych wariantów polimorficznych w skanowanych obszarach genu *UBC9*. Na podstawie sekwencjonowania stwierdzono obecność znanych polimorfizmów występujących w pobliżu eksonów 5 (333+19T>C; rs909916 i 333+25C>G; rs909917) oraz 7 (\*24A>G; rs8063), w pozostałych skanowanych obszarach wykazano zgodność z sekwencją referencyjną (NM\_194260.2).

**AKTYWNOŚĆ MIKROBIOLOGICZNA OLEJKÓW ETERYCZNYCH IZOLOWANYCH  
Z SZYSZKOJAGÓD JAŁOWCA POSPOLITEGO PO PROCESIE OZONOWANIA  
W ZŁOŻU DYNAMICZNYM**

Agnieszka Brodowska<sup>1\*</sup>, Krzysztof Śmigielski<sup>1</sup>, Agnieszka Nowak<sup>2</sup>, Katarzyna Brodowska<sup>1</sup>

1) Politechnika Łódzka, Instytut Podstaw Chemii Żywności,  
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź

2) Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii,  
ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

email autora do korespondencji\*: [agnieszka.brodowska@dokt.p.lodz.pl](mailto:agnieszka.brodowska@dokt.p.lodz.pl)

Surowce roślinne poddawane są stałej kontroli i monitorowaniu zarówno pod względem ich jakości jak i bezpieczeństwa mikrobiologicznego. Są to również podstawowe cele, które muszą być spełnione, by móc w pełni zachować właściwą ochronę konsumentów. Priorytetem dla każdego, kto jest związany z żywnością jest zapewnienie jej ochrony przed zanieczyszczeniami, z jednoczesnym utrzymaniem właściwości i cech odżywczych.

Różnorodne metody dekontaminacji (oczyszczania) surowców roślinnych zapobiegają, bądź redukują poziom ich zanieczyszczeń. Jednak większość stosowanych środków dekontaminujących poprzez bezpośredni kontakt z powierzchnią oczyszczanego surowca może negatywnie oddziaływać na jego właściwości, jak również skład.

Celem przeprowadzonych badań było określenie aktywności mikrobiologicznej olejków eterycznych izolowanych z szyszkojagód jałowca pospolitego po procesie ozonowania w złożu dynamicznym. Materiał badawczy stanowiły szyszkojagody jałowca pospolitego (*Juniperus communis* L.), (Kawon-Hurt, Gostyń, Polska). Proces ozonowania przeprowadzono stosując zróżnicowane dawki ozonu i czas trwania procesu. Aktywność mikrobiologiczną otrzymanych olejków eterycznych zbadano zarówno pod względem bakterii gramdodatnich, jak i gramujemnych.

**NARYNGENINOWA ZASADA SCHIFFA I JEJ ODDZIAŁYWANIA Z DNA**

Katarzyna Brodowska\*, Elżbieta Łodyga-Chruścińska, Agnieszka Brodowska

*Politechnika Łódzka, Instytut Podstaw Chemii Żywności, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: katarzyna.brodowska@dokt.p.lodz.pl*

Ze względu na aktywność biologiczną flawonoidy są zazwyczaj określane mianem bioflawonoidów. Związki flawonoidowe różnią się w swojej budowie, stąd też można je podzielić na kilka klas: flawanole, flawanony, izoflawony, flawonole, flawony i antocyjany. Niezwykle interesującą klasą związków jest grupa flawanonów. Jednym z jej przedstawicieli jest obecna w grejpfrutach naryngenina, która nie była dotąd szeroko badana pod względem swoich potencjalnych właściwości (przeciwbakteryjne, przeciwrzybicze, przeciwnowotworowe).

Coraz częściej, związki flawonoidowe są wykorzystywane jako substraty w reakcjach syntezy flawonoidowych pochodnych w celu uzyskania produktów – związków o zwiększonej aktywności biologicznej. Jednym z najczęściej stosowanych schematów jest schemat reakcji otrzymywania zasad Schiffa.

Celem niniejszych badań było zbadanie otrzymanej flawonoidowej pochodnej – naryngeninowej zasady Schiffa pod względem oddziaływań z DNA. Uzyskane widma UV-Vis dla naryngeniny porównano z jej pochodną. Ponadto zbadano też oddziaływania kompleksów związków z DNA.

**RÓŻNICE POTENCJAŁU ANTYOKSYDACYJNEGO KOMÓREK DROŹDŹY  
*CANDIDA ALBICANS* I *CANDIDA GLABRATA* PODDANYCH DZIAŁANIU  
KLASYCZNYCH TERAPEUTYKÓW Z GRUPY LEKÓW AZOLOWYCH**

Monika Caban<sup>\*</sup>, Marcin Wachulec, Agnieszka Grzelak

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: monika.a.caban@gmail.com

Drożdże *Candida* są oportunistycznymi patogenami zasiedlającymi przewód pokarmowy większości zdrowych ludzi. W niekorzystnych dla gospodarza warunkach mogą one wyprzeć mikroflorę bakteryjną i wywołać infekcję grzybiczą. Infekcje wywołane grzybami *Candida* mogą być miejscowe lub, w cięższych przypadkach, ogólnoustrojowe, jeśli drożdże przedostaną się do krwioobiegu pacjenta. Drożdże z rodzaju *Candida* bardzo szybko nabywają lekooporność w kontakcie z lekami przeciwgrzybiczymi, dlatego niezwykle ważną kwestią w leczeniu kandydoz jest wstępne określenie profilu oporności szczepu wywołującego zakażenie. W praktyce jednak często nie jest to możliwe. Powszechną praktyką jest stosowanie leków azolowych bez wcześniejszego sprawdzenia choćby rodzaju drożdży *Candida* powodujących zakażenie, mimo że dwa najpowszechniej występujące rodzaje: *Candida albicans* i *Candida glabrata*, zasadniczo różnią się pierwotną opornością na najczęściej stosowane leki azolowe.

Jednym z najważniejszych mechanizmów wpływających na przeżycie i wirulencję szczepów *Candida* jest odpowiedź na stres oksydacyjny. Wpływa ona na zdolność komórki do adaptacji w warunkach innego rodzaju stresu oraz ochronę przed odpowiedzią ze strony układu immunologicznego gospodarza. W pracy zbadano różnice w odpowiedzi komórek drożdży *C. albicans* i *C. glabrata* na subtoksyczne dawki leków azolowych najczęściej stosowanych klinicznie: flukonazolu, itraconazolu i ketokonazolu poprzez analizę produkcji wolnych rodników i oporności na badane leki.

## WPLYW BIOSURFAKTANTÓW NA PROCES TWORZENIA BIOFILMU BAKTERYJNEGO

Joanna Chojniak<sup>1\*</sup>, Łukasz Jałowiecki<sup>1</sup>, Izabela Biedroń<sup>1</sup>,

Katarzyna Paraszkievicz<sup>2</sup>, Grażyna Płaza<sup>1</sup>

1) Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Mikrobiologia Środowiska,  
ul. Kossutha 6, 40-844 Katowice

2) Uniwersytet Łódzki, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: chojniak@ietu.katowice.pl

Mikroorganizmy zasiedlające środowisko wykazują tendencje do kumulowania się na granicy faz ciecz-ciało stałe, ciecz-gaz, ciecz-ciecz i tworzenia struktury zwanej biofilmem (inaczej: błona biologiczna). Biofilm to złożona wielokomórkowa struktura mikroorganizmów (bakterii, grzybów, glonów) należących do różnych rodzajów i gatunków, otoczona warstwą śluzu. Powstawanie biofilmu jest procesem wieloetapowym, uzależnionym od powierzchni, na której powstaje, jak i od właściwości tworzących go mikroorganizmów, a w szczególności właściwości adhezyjnym. Aktualnie podejmowane są badania mające na celu poznanie mechanizmów powstawania i funkcjonowania biofilmu, jak i skutecznej walki z nim. Wykazano, że związki powierzchniowo-czynne, w tym syntetyzowane przez mikroorganizmy (biosurfaktanty) mają właściwości przeciwbakteryjne i przeciwadhezyjne ograniczając w ten sposób, m.in. powstawanie biofilmu.

Celem badań była ocena wpływu biosurfaktanów zawartych w płynach pochodzących dwóch szczepów *Bacillus subtilis* oznaczonych jako KP7 i I'1a na powstawanie biofilmu tworzonego przez bakterie środowiskowe, wyizolowane ze ścieków. Wcześniejsze badania wykazały, że płyny pochodzące z szczepów KP7 i I'1a zawierają w dużej ilości biosurfaktanty, w przypadku KP 7- jest to surfaktyna, natomiast I'-1a - iturina.

**ZAHAMOWANIE UTLENIANIA BIAŁEK POD WPŁYWEM POLA  
ELEKTROMAGNETYCZNEGO A POPRAWA STANU FUNKCJONALNEGO  
PACJENTÓW PO UDARZE NIEDOKRWIENNYM MÓZGU**

Natalia Cichon<sup>\*</sup>, Michał Bijak, Joanna Saluk

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: ncichon@biol.uni.lodz.pl*

Jedną z przyczyn powstawania zmian niedokrwiennych jest stres oksydacyjny. Jest on także główną przyczyną po-reperfuzyjnych uszkodzeń mózgu będących następstwem udaru niedokrwiennego mózgu. Poprawa stanu funkcjonalnego pacjentów poudarowych możliwa jest ze względu na dużą plastyczność mózgu, jednak proces rehabilitacyjny musi być rozpoczęty możliwie jak najszybciej i prowadzony przez dłuższy czas.

Celem niniejszej pracy było określenie zależności pomiędzy zahamowaniem uszkodzeń oksydacyjnych (karboksylacji białek) pod wpływem rehabilitacji polem elektromagnetycznym, a stanem funkcjonalnym pacjentów. Materiał badawczy stanowiło osocze wyizolowane z krwi pełnej, pobranej 3-krotnie: przed, po 10 i po 20 zabiegach, od pacjentów (n=23) po przebytym udarze niedokrwiennym mózgu, poddawanych magnetoterapii oraz ćwiczeniom aerobowym. Grupę kontrolną (n=34) (homologiczną pod względem wieku i płci) stanowili pacjenci bez magnetoterapii. Do określenia stanu funkcjonalnego wykorzystano skale: ADL (oceniającą podstawowe czynności dnia codziennego) i MMSE (służącą do określenia stopnia otępienia).

Wykazano, że wraz z rosnącą liczbą zabiegów magnetoterapii hamowany jest proces karbonylacji białek osocza ( $p<0,001$ ) oraz obserwuje się poprawę stanu funkcjonalnego pacjentów poudarowych. Co więcej odnotowano ujemną korelację między stężeniem grup karbonylowych w białkach osocza, a wartościami skal ADL ( $p<0,01$ ) oraz MMSE ( $p<0,01$ ).

Istnieją tylko nieliczne i niespójne dane na temat antyoksydacyjnego działania pola elektromagnetycznego, a stosowanie magnetoterapii w rehabilitacji poudarowej uważa się za niestandardową formę poprawy stanu funkcjonalnego pacjentów. Uzyskane wyniki potwierdzają celowość wykorzystywania terapii polem elektromagnetycznym w rehabilitacji chorych po udarze oraz wskazują na jego przeciwutleniające działanie, które skorelowane jest z poprawą funkcjonowania pacjentów poudarowych.

**POZIOM CYTOKININ W MEDIUM HODOWLANYM KOMÓREK UKŁADU  
IMMUNOLOGICZNEGO W ODPOWIEDZI NA EGZOSOMY  
POCHODZENIA NOWOTWOROWEGO**

Liliana Czernek<sup>\*</sup>, Markus Döchler

*Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk,  
Zakład Chemii Bioorganicznej, ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź*

*email autora do korespondencji <sup>\*</sup>: lczernek@cbmm.lodz.pl*

W ostatnich latach postuluje się możliwość wykorzystania metod immunoterapeutycznych w walce z nowotworami, które bazują na zwiększeniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Strategie te obejmują użycie cytokin aktywujących komórki biorące udział w odpowiedzi odpornościowej jak np. interleukina 12 (IL-12). IL-12 dogrywa ważną rolę w regulacji zarówno wrodzonej jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej (wysoka zdolność do aktywowania limfocytów T i komórek NK – natural killer). Wiele dowodów wskazuje na udział układu immunologicznego w odporności przeciwnowotworowej. Wcześniejsze badania wykazały istnienie mechanizmu komunikacji międzykomórkowej za pomocą egzosomów. Egzosomy zawierają cząsteczki miRNA, które mogą wpływać na funkcje komórek docelowych, czego efektem może być obniżenie poziomu lub całkowity zanik danego białka. Taki proces prawdopodobnie zachodzi w przypadku IL-12 i polega na asocjacji miRNA do mRNA IL-12, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania translacji tego białka. Dlatego też egzosomy wydzielane z komórek nowotworowych mogą uczestniczyć w rozwoju immunosupresji jako forma obrony przed reakcją układu immunologicznego organizmu. Mechanizmy leżące u podłoża tych procesów są słabo poznane. Celem badań było określenie poziomu IL-12 w medium hodowlanym komórek układu immunologicznego z wykorzystaniem metody Cytometric bead array (CBA). Głównym źródłem IL-12 u człowieka są aktywowane dojrzałe i niedojrzałe komórki dendrytyczne oraz makrofagi. Komórki, po stymulacji do produkcji IL-12, były traktowane egzosomami wyizolowanymi z hodowli linii nowotworowej A375 (czerniak), po uprzednim inkubowaniu w 37°C przez 72h. Pomiar i analizę przeprowadzono z wykorzystaniem cytometru przepływowego. Wyniki pokazały, że inkubacja aktywowanych komórek z egzosomami wpływa na zmianę poziomu IL-12 w stosunku do kontroli. Może to sugerować udział procesu dojrzewania pre-microRNA dla docelowego transkryptu dla białka IL-12 podczas inkubacji egzosomów. Możliwe, że obniżanie poziomu IL-12 jest mechanizmem, dzięki któremu komórki nowotworowe przejmują kontrolę nad układem immunologicznym.



## **AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA WĄTROBOWCÓW SPRZYMIERZENIEM W WALCE Z PATOGENAMI**

Magdalena Czołpińska\*, Anna Zofia Roszak, Katarzyna Buczkowska-Chmielewska,  
Piotr Wawrzyniak, Alina Bączkiewicz

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Genetyki,  
ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań*

*email autora do korespondencji\*: magdalena.czolpinski@amu.edu.pl*

Wątrobowce stanowią jedną z trzech gromad mszaków liczącą obecnie około 6000 gatunków, przy czym liczba ta wciąż rośnie w związku z odkrywaniem i opisywaniem nowych gatunków. Rośliny te posiadają niezwykle cenną ewolucyjnie cechę. Występujące u nich w komórkach ciała oleiste stanowią magazyn dla licznych związków chemicznych wykazujących aktywność biologiczną. Wątrobowce jako rośliny rosnące na podłożu w bezpośrednim kontakcie z potencjalnymi mikroorganizmami chorobotwórczymi, ale nie posiadające w przeciwieństwie do roślin wyższych dodatkowych barier obronnych (np. skórka czy korek) wykorzystały zawartość wspomnianych substancji jako jedną z dróg obrony i walki z patogennymi bakteriami, grzybami czy wirusami, co z całą pewnością odegrało niemałą rolę w ich sukcesie ewolucyjnym. Obecność terpenoidów i związków fenolowych stanowi także o przydatności wątrobowców jako roślin stosowanych od wieków w medycynie. Zastosowanie ekstraktów pochodzenia roślinnego do zwalczania patogenów atakujących ludzi i zwierzęta jest niezwykle obiecujące, głównie ze względu na nabywanie przez chorobotwórcze szczepy oporności na powszechnie stosowane komercyjnie produkowane leki przeciwdrobnoustrojowe. Ekstrakty, zarówno organiczne jak i nieorganiczne, otrzymane z wątrobowców posiadają szerokie spektrum aktywności biologicznej, mogą mieć nie tylko działanie bakteriobójcze czy przeciwgrzybowe ale również przeciwwirusowe czy nawet cytotoksyczne.

Białka obronne to kolejna grupa związków zapewniających wątrobowcom możliwość walki z patogenami. Mechanizm działania tych związków został zdecydowanie słabiej poznany w porównaniu ze związkami terpenowymi. Do roślinnych białek odpornościowych zaliczamy m.in. lektyny, białka LTP (Lipid Transfer Proteins) oraz białka z rodziny GRP (Glycine-Rich Proteins). Zaprezentowane wyniki badań potwierdzają działanie przeciwbakteryjne organicznych i nieorganicznych ekstraktów otrzymanych z wybranych gatunków wątrobowców, a także obecność białek z rodziny LTP oraz lektyn.

## **WPLYW SUPERNATANTÓW Z KONCENTRATÓW KRWINEK CZERWONYCH NA AGREGACJĘ PŁYTEK KRWI**

Kamila Czubak\*, Halina Małgorzata Żbikowska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji\* : [kamilaczubak@biol.uni.lodz.pl](mailto:kamilaczubak@biol.uni.lodz.pl)*

Przetoczenie świeżo mrożonego osocza, koncentratu krwinek płytkowych (KKP) czy krwinek czerwonych (KKCz) może powodować zaburzenia hemostazy u biorców. Główną przyczyną koagulopatii poprzetoczeniowej u pacjentów jest rozcieńczenie czynników krzepnięcia i płytek krwi przez antykoagulant oraz płyn konserwujący obecny w przetoczonym składniku krwi. Jak dotąd, nie wyjaśniono czy środowisko w jakim w ośrodkach krwiodawstwa i krwiolecznictwa przechowywane są krwinki czerwone bezpośrednio nie oddziałuje na funkcje płytek krwi. Podczas przechowywania (max. 42 dni) w supernatantach KKCz dochodzi do akumulacji żelaza, cytokin prozapalnych, lipidów bioaktywnych oraz innych substancji o działaniu immunomodulującym. Zależność pomiędzy ilością przetoczonych jednostek KKCz oraz czasem ich przechowywania, a częstością występowania reakcji poprzetoczeniowych, m.in. ostrego poprzetoczeniowego uszkodzenia płuc czy niewydolności wielonarządowej została dowiedziona.

Celem przeprowadzonych badań była ocena wpływu supernatantów otrzymanych z komercyjnych KKCz na agregację płytek krwi. Materiał badawczy stanowiło świeże, bogatopłytkowe osocze ludzkie inkubowane z badanymi supernatantami uzyskanymi ze świeżych i przeterminowanych KKCz. Procent zagregowanych płytek krwi po dodaniu agonisty (kolagen ChronoLog; końcowe stężenie 2µg/ml) określono za pomocą agregometru ChronoLog 490.

Podsumowując, uzyskane wyniki wykazały, że supernatanty z przeterminowanych KKCz hamują agregację płytek krwi. Upośledzona agregacja płytek krwi w warunkach *in vitro* prawdopodobnie związana jest z obniżoną ekspresją kompleksu GPIIb/IIIa na powierzchni płytek krwi odpowiedzialnego za ich agregację.

**WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNE OLEJKU ETERYCZNEGO Z NASION  
SELERA ZWYCZAJNEGO (*APIUM GRAVEOLENS*)**

Justyna Dąbrowska<sup>1\*</sup>, Krzysztof Śmigieński<sup>1</sup>, Alina Kunicka-Styczyńska<sup>2</sup>

1) Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Podstaw Chemii Żywności,  
ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź

2) Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Technologii Fermentacji  
i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź

email autora do korespondencji\*: justyna.alicja.dabrowska@gmail.com

Nasiona, które utraciły zdolność kiełkowania traktowane są jako materiał odpadowy i najczęściej są wykorzystywane jako pasza dla zwierząt, pomimo, że stanowią źródło wielu cennych substancji biologicznie czynnych.

Materiał do badań stanowiły nasiona odpadowe selera zwyczajnego (*Apium graveolens*), które utraciły zdolność kiełkowania. Olejek eteryczny wydzielony został metodą destylacji z parą wodną w zmodyfikowanym aparacie do hydrodestylacji. Analiza składu jakościowego wskazuje, że jest on bogatym źródłem limonenu,  $\alpha$ -selinenu,  $\beta$ -selinenu, sedanenolidu oraz butyloftalidu.

Analizę aktywności przeciwutleniającej wykonano metodą redukcji rodnika DPPH oraz rodnika ABTS. Zawartość polifenoli ogółem oznaczono metodą kolorymetryczną z wykorzystaniem odczynnika Folina–Ciocalteu. Wyniki przeprowadzonych analiz świadczą o wysokiej aktywności antyoksydacyjnej olejku eterycznego z nasion selera zwyczajnego (*Apium graveolens*).

**DENDRYMERY JAKO NOŚNIKI DLA FOTOU CZULACZY:  
WPŁYW KOMPLEKSOWANIA NA STOPIEŃ GENEROWANIA TLENU  
SINGLETOWEGO W EFEKCIE FOTODYNAMICZNYM**

Monika Dąbrzalska<sup>\*</sup>, Barbara Klajnert-Maculewicz

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: rozanek.monika@gmail.com*

W terapii fotodynamicznej wykorzystuje się fotouczulacze, które dopiero po naświetleniu światłem widzialnym o odpowiedniej długości fali, stają się toksyczne dla komórek nowotworowych. Ten rodzaj terapii jest dobrą alternatywą dla innych dostępnych form leczenia, takich jak chemioterapia czy leczenie operacyjne. Obecnie, leczenie za pomocą terapii fotodynamicznej napotyka problemy związane między innymi ze zbyt niską selektywnością fotouczulaczy, niską rozpuszczalnością, czy wywołaniem nadmiernej reakcji na światło u pacjentów po naświetlaniu. Efektywność fotouczulaczy może być poprawiona przez zastosowanie dla nich nośników, np. dendrymerów.

Dendrymery to kuliste, rozgałęzione polimery o regularnej budowie. Polimery te składają się z rdzenia, dendronów odchodzących od rdzenia oraz grup funkcjonalnych na powierzchni cząsteczki. Struktura dendrymerów pozwala na przyłączanie do nich innych cząsteczek, np. leków czy fotouczulaczy, zarówno przez połączenia kowalencyjne, jak i niekowalencyjne. Utworzenie kompleksów dendrymer-fotouczulacz może jednak wpływać na właściwości cząsteczek fotouczulacza i jego zdolność do generowania tlenu singletowego i reaktywnych form tlenu w efekcie fotodynamicznym.

W prowadzonych badaniach wykorzystano róż bengalski, błękit metylenowy oraz dwa dendrymery fosforowe posiadające przeciwne naładowane grupy funkcyjne. Celem przedstawionych badań było określenie, czy utworzenie kompleksów dendrymerów z fotouczulaczami wpływa na stopień generowania tlenu singletowego ( $^1\text{O}_2$ ) w środowisku wodnym oraz porównanie poziomu  $^1\text{O}_2$  generowanego przez kompleksy i wolne fotouczulacze.

*Badania prowadzone są w ramach projektu HARMONIA nr UMO-2013/08/M/NZ1/00761 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.*

**OCENA WŁAŚCIWOŚCI GENOTOKSYCZNYCH CAPE –  
– AKTYWNEGO SKŁADNIKA PROPOLISU**

Gabriela Gajek\*, Renata Kontek

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Pracownia Cytogenetyki,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

*email autora do korespondencji : gajekgabriela@gmail.com*

Propolis, kit pszczeli, już w starożytności znalazł zastosowanie w medycynie naturalnej i jest używany do dziś jako suplement diety. Dotychczasowe badania wykazały, że propolis działa przeciwbakteryjnie, przeciwzapalnie oraz przeciwgrzybczo. Jego aktywnym komponentem jest ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE - *ang. caffeic acid phenethyl ester*), któremu m. in. propolis zawdzięcza swoje szczególne działanie farmakologiczne. Badania dowodzą, że ester fenyloetylowy kwasu kawowego, dzięki swoim wyjątkowym właściwościom może znaleźć zastosowanie w terapii przeciwnowotworowej. Co więcej, stwierdzono preferencyjne działanie estru fenyloetylowego kwasu kawowego, tylko stosunku do komórek nowotworowych. Dotychczas, wykazano szerokie spektrum działania przeciwnowotworowego CAPE w stosunku do wielu modeli raka m. in. piersi, prostaty czy płuc. Celem badania była ocena zdolności do indukcji uszkodzeń DNA pod wpływem CAPE w stosunku do komórek raka jelita grubego.

Badania prowadzone były na komórkach linii nowotworowych: HCT116, HT-29, AGS oraz prawidłowych limfocytach krwi obwodowej człowieka *in vitro*. Do oceny genotoksyczności CAPE zastosowano test kometowy w wersji alkalicznej.

Analiza wyników wykazała dawko-zależny wzrost % zawartości DNA w ogonach komet pod wpływem CAPE, zarówno dla limfocytów krwi obwodowej człowieka, jak i badanych linii nowotworowych. Jednak efekt genotoksyczny zaobserwowany dla komórek prawidłowych był niższy niż w przypadku komórek nowotworowych.

Uzyskane wyniki dają nadzieje na pozytywne wyniki w dalszych badaniach ukierunkowanych na wykorzystanie CAPE w terapii przeciwnowotworowej raka jelita grubego.

**WŁAŚCIWOŚCI FIZYKO-CHEMICZNE PORFIRAZYN SIARKOWYCH  
Z PODSTAWNIKAMI MORFOLINOETOKSYLOWYMI O POTENCJALNYM  
ZASTOSOWANIU W PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ  
TERAPII FOTODYNAMICZNEJ**

Piotr Gierlich<sup>1</sup>, Lidia Sierpowska<sup>1</sup>, Paulina Skupin-Mrugalska<sup>1\*</sup>, Tomasz Koczorowski<sup>2</sup>,  
Wojciech Szczółko<sup>2</sup>, Tomasz Gośliński<sup>2</sup>, Jadwiga Mielcarek<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu,  
Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

2) Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu,  
Katedra Technologii Chemicznych Środków Leczniczych, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

*email autora do korespondencji\* : p\_skupin@wp.pl*

Przeciwdrobnoustrojowa terapia fotodynamiczna (ang. *Photodynamic Antimicrobial Chemotherapy*, PACT) należy do nurtu poszukiwania nowych metod terapii chorób o etiologii bakteryjnej, wirusowej i grzybiczej. PACT polega na reakcji między nietoksycznym fotouczulaczem, a tlenem cząsteczkowym po ekspozycji fotouczulacza na promieniowanie o odpowiedniej długości fali. W wyniku interakcji fotouczulacz – tlen cząsteczkowy – światło, powstają reaktywne formy tlenu, z których tlen singletowy jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za skuteczność terapii. Tlen singletowy, jako wysoce reaktywna forma tlenu, reaguje z biomolekułami drobnoustrojów powodując ich inaktywację. Do fotouczulaczy stosowanych w PACT należy m.in. grupa związków makrocyclicznych określana mianem porfiryroidów, do których zalicza się porfiryny, ftalocyjaniny i porfirazyny. Wśród nich poszukuje się nowych pochodnych o obiecujących właściwościach fizyko-chemicznych.

W niniejszej pracy, analizowano właściwości fizyko-chemiczne pochodnych porfirazyn siarkowych z podstawnikami morfolinoetoksyłowymi, posiadającymi inkorporowany do centrum koordynacyjnego jon magnezu lub cynku. Badania obejmowały (i) wyznaczenie współczynnika podziału o/w i zdolności interakcji z lipidowymi strukturami, (ii) ocenę właściwości spektralnych oraz (iii) zdolności generowania tlenu singletowego metodą porównawczą z wykorzystaniem ftalocyjaniny cynkowej jako związku porównawczego oraz 1,3-difenylloizobenzofuranu jako chemicznego wygaszacza tlenu singletowego.

*Badania zostały wykonane w ramach środków przyznanych na finansowanie działalności polegającej na prowadzeniu badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców: nr 502-14-03307415-50590.*

**LAKAZA *MYROTHECIUM RORIDUM* – IZOLACJA I WSTĘPNA****CHARAKTERYSTYKA BIOCHEMICZNA**

Aleksandra Góralczyk<sup>1\*</sup>, Anna Jasińska<sup>2</sup>, Jerzy Długoński<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Studenckie Koło Naukowe  
Biotechnologiczno-Mikrobiologiczne "SKN Bio-Mik", Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej  
i Biotechnologii, Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji : olagoralczyk92@tlen.pl

Lakazy to wielomiedziowe oksydoreduktazy, które znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, chemicznym, odzieżowym oraz biotechnologii. Ze względu na ogromny potencjał aplikacyjny tych enzymów konieczne jest poszukiwanie nowych lakaz charakteryzujących się wysoką aktywnością oraz stabilnością w niekorzystnych warunkach środowiska. Celem niniejszej pracy była izolacja i wstępna charakterystyka lakazy grzyba strzępkowego *Myrothecium roridum* IM 6482.

Hodowlę grzybni prowadzono w modyfikowanym podłożu płynnym Czapek-Dox zawierającym 1mM  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Po 48 godz. hodowli lakazę wytrącano siarczanem amonu, a następnie częściowo oczyszczano stosując ultrafiltrację. Dla tak przygotowanego enzymu wyznaczono specyficzność substratową wobec ABTS, 2,6-DMP, gwajakolu oraz DMPPDA. Badania wykazały, że lakaza *M. roridum* zdolna jest do utleniania wszystkich badanych substratów. Najwyższą aktywność (18861 U/l) odnotowano w przypadku zastosowania ABTS, a najniższą (6,25 U/l) w próbach zawierających gwajakol. Stosując ABTS jako substrat określono aktywność i stabilność enzymu w różnych wariantach temperatury i pH. Stwierdzono, że lakaza *M. roridum* charakteryzuje się wysoką aktywnością w szerokim zakresie wartości pH (3-8). Najwyższą stabilność enzymu (100%) odnotowano w buforze o pH 6. Enzym charakteryzował się również wysoką opornością na temperaturę otoczenia (po 3 godzinach inkubacji w temp. 37°C zachowywał 64% aktywności) oraz na działanie wybranych inhibitorów chemicznych (SDS, EDTA i azodyku sodu).

Wysoka aktywność i stabilność enzymu w szerokim zakresie pH oraz temperatury, w połączeniu ze stosunkowo wysoką opornością na działanie związków powszechnie uważanych za inhibitory enzymów, to cechy bardzo pożądane u enzymów wykorzystywanych do eliminacji ksenobiotyków (np. toksycznych barwników tekstylnych).

Projekt finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki w Krakowie przyznanych na podstawie decyzji nr UMO 2013/11/D/NZ9/02776.

## **NOWA POCHODNA NITROKSYLOWA NPN2 POTENCJALNYM INHIBITOREM BIOENERGETYKI MITOCHONDRIALNEJ KOMÓREK RAKA SUTKA**

Joanna Hertel<sup>\*</sup>, Ewa Bartko, Aneta Koceva-Chyła, Magdalena Łabieniec-Watała

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Medycznej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: askaher@wp.pl*

Metabolizm energetyczny komórek nowotworowych stał się jednym z głównych celów badań oraz poszukiwań nowych strategii terapii przeciwnowotworowych. Udowodniono, że niektóre typy komórek nowotworowych czerpią energię nie tylko z procesów glikolizy, ale także pozyskują ją z fosforylacji oksydacyjnej zachodzącej w mitochondriach. Dlatego organelle te uznano za dobry cel terapii przeciwnowotworowej. Mając na uwadze te informacje, celem naszych badań stało się zastosowanie nowej pochodnej nitroksylowej NPN2 jako inhibitora wydajności oddechowej mitochondriów komórek raka sutka. W pracy testowano hipotezę badawczą zakładającą, że hamowanie bioenergetyki mitochondrialnej przez NPN2 może przyczyniać się do śmierci tych komórek.

Badania zostały wykonane na linii komórkowej estrogenozależnego raka sutka MCF-7. Podstawowe parametry odzwierciedlające funkcjonowanie bioenergetyki mitochondrialnej oceniono metodą oskygraficzną (oksygraf-2k, Oroboros, Austria), po inkubacji komórek z wybranymi stężeniami NPN2 w czasie 2h i 24h. Ocenie poddano także efektywność przeciwnowotworową NPN2 i zdolność mitochondriów do obrony przed szkodliwym działaniem NPN2.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że NPN2 jest w stanie wydajnie ograniczyć oddychanie tlenowe w komórkach MCF-7, ale aby taki efekt został osiągnięty należy zastosować NPN2 w stężeniu zbliżonym do wartości jej stężenia IC<sub>50</sub> (500 μM) i komórki inkubować przynajmniej przez 24h.

Wnioski z pracy skłaniają do stwierdzenia, że poszukując związków o potencjalnym zastosowaniu przeciwnowotworowym należy rozpatrywać chorobę nowotworową także w kategoriach choroby metabolicznej, w której za efektywny cel działania potencjalnych leków uważa się mitochondria i procesy związane z metabolizmem komórki. Pierwsze obiecujące badania nad NPN2 w kontekście jej aktywności 'anty-mitochondrialnej' zachęcają do dalszych badań w kierunku nakreślonym w niniejszej pracy.



**WIĄZANIE LUDZKIEGO SUROWICZEGO AMYLOIDU A****PRZEZ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***

Malwina Kawka<sup>1\*</sup>, Bożena Dziadek<sup>1</sup>, Katarzyna Dzitko<sup>1</sup>, Jarosław Dziadek<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Zakład Immunoparazytologii, ul. Banacha 12/16, 90-236 Łódź

2) Instytut Biologii Medycznej Polskiej Akademii Nauk, Pracownia Genetyki i Fizjologii *Mycobacterium*, ul. Lodowa 106, 93-23 Łódź

email autora do korespondencji\*: malwina.kawka@biol.uni.lodz.pl

*Mycobacterium tuberculosis* jest wewnątrzkomórkowym patogenem bakteryjnym będącym czynnikiem etiologicznym gruźlicy. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) zakażenia prątkami gruźlicy stanowią drugą, spośród chorób zakaźnych, przyczynę śmiertelności ludzi na świecie, powodując około 3 milionów zgonów rocznie. Chorobotwórczość tych drobnoustrojów warunkowana jest szerokim spektrum mechanizmów wirulencji umożliwiających prątkom gruźlicy manipulowanie elementami zarówno wrodzonej jak i adaptacyjnej odpowiedzi odpornościowej gospodarza. Jednym z kluczowych elementów nieswoistej odpowiedzi immunologicznej jest reakcja ostrej fazy, charakteryzująca się nasileniem bądź hamowaniem syntezy szerokiej grupy czynników humoralnych nazywanych białkami ostrej fazy. Surowiczy amyloid A (izoformy SAA1/SAA2) to białko surowicy krwi zaliczane do pozytywnych białek ostrej fazy, odznaczające się immunomodulacyjnym charakterem. Wysoki poziom SAA obserwowany jest m.in. w przebiegu wielu chorób układu oddechowego, w tym także gruźlicy płuc.

Zdolność prątków gruźlicy do oddziaływania z białkami gospodarza, manipulowanie składowymi odpowiedzi odpornościowej, a także podwyższony poziom SAA w tkankach płuc osób chorujących na gruźlicę przyczyniły się do podjęcia badań zmierzających do oceny interakcji pomiędzy żywymi komórkami *M. tuberculosis* a ludzkim SAA. Przeprowadzone doświadczenia wykazały, iż żywe prątki gruźlicy wiążą rekombinowany ludzki SAA (rhSAA), a obserwowane wiązanie było wprost proporcjonalne do stężenia badanego białka ostrej fazy. Ponadto zastosowanie testu kompetycji z użyciem znakowanego biotyną rhSAA oraz nieznakowanego homologicznego białka wykazało, iż obserwowane wiązanie ludzkiego SAA jest specyficzne. Następnie przy użyciu techniki chromatografii powinowactwa wyizolowano białka *M. tuberculosis*, o masie cząsteczkowej 70kDa, 60kDa oraz 20kDa, wiążące rhSAA, które zostały poddane dalszej analizie w celu określenia ich sekwencji aminokwasowych oraz precyzyjnej identyfikacji na drodze analizy porównawczej w oparciu o dostępne bazy danych.

**AUTOMATYZACJA ZLICZANIA KOMÓREK W BADANIACH****CYTOTOKSYCZNOŚCI *IN VITRO***

Benita Kostrzewa<sup>1\*</sup>, Kornelia Gajek<sup>2</sup>, Katarzyna Gębczak<sup>1</sup>,

Tomasz Gębarowski<sup>1</sup>, Kazimierz Gąsiorowski<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Zakład Podstaw Nauk Medycznych,  
ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław

2) Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Katedra i Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii  
Dziecięcej, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

email autora do korespondencji\*: [benita.kostrzewa@gmail.com](mailto:benita.kostrzewa@gmail.com)

Cytotoksyczność *in vitro* może być określana m.in. metodą bezpośrednią. Polega ona na zliczaniu odpowiednio zabarwionych komórek żywych, apoptotycznych oraz nekrotycznych. W tym celu stosuje się pary barwników – jeden z nich barwi komórki żywe bądź apoptotyczne, drugi może wnikać tylko do komórek nekrotycznych. W analizach wykorzystywano 2 grupy barwników: jodek propidyny i aneksynę V oraz Hoechst 33342 i aneksynę V.

Do zliczania komórek na uzyskanych zdjęciach wykorzystano oprogramowanie ImageJ – darmowy pakiet do analizy obrazów, który jest rozbudowywany już od prawie 20 lat. Nie dostarcza on jednak gotowego rozwiązania, a jedynie zestaw modułów – narzędzi, które dopiero odpowiednio razem połączone, pozwalają wykonać określone zadanie. Program posiada język skryptowy umożliwiający automatyzację wykonywanych czynności (także dla wielu obrazów).

Stworzono rozwiązanie pozwalające na zliczanie komórek żywych i martwych, z powodzeniem wykorzystywane przy własnych testach (do kilkuset komórek na pojedynczym zdjęciu). Dodatkowo uzyskiwana jest informacja o wielkości komórek.

Po korekcji kontrastu obrazu stosowane jest progowanie dla odpowiednich kanałów, a następnie szereg pomocniczych funkcji, jak wypełnianie zamkniętych obszarów czy segmentacja wododziałowa. Właściwe wyodrębnianie pojedynczych komórek opiera się na połączeniu działania modułu programu ImageJ rozpoznającego „cząstki” o określonej wielkości oraz wyszukiwania maksimów lokalnych.

Przygotowane rozwiązanie idealnie sprawdza się przy zadaniu, do którego zostało przewidziane – zliczaniu komórek w testach *in vitro*.

## ZASTOSOWANIE SUROWCÓW ODPADOWYCH DO PRODUKCJI KAROTENOIDÓW I LIPIDÓW PRZEZ DROŻDŻE *RHODOTORULA GRACILIS*

Anna Maria Kot<sup>\*</sup>, Stanisław Błażej, Agnieszka Kurcz, Kamil Piwowarek

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego z Warszawy, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Biotechnologii,  
Mikrobiologii i Oceny Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności,  
ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: anna\_kot@sggw.pl

Drożdże z rodzaju *Rhodotorula* mają zdolność do syntezy wielu cennych związków o szerokim zastosowaniu przemysłowym. W zależności od warunków hodowli, biomasa tych drożdży może stanowić źródło tłuszczu mikrobiologicznego, karotenoidów czy enzymów takich jak liaza fenyloalaninowa. Celem niniejszej pracy było określenie zdolności biosyntezy karotenoidów i lipidów przez drożdże *Rhodotorula gracilis* w podłożach przygotowanych wyłącznie z dwóch produktów odpadowych: glicerolu (źródło węgla) oraz odbiałzonej ziemniaczanej wody sokowej (źródło azotu oraz składników mineralnych).

Podłoża doświadczalne stanowiła odbiałczona ziemniaczana woda sokowa z 3, 5 i 10% dodatkiem glicerolu. Hodowle prowadzono przez 96 h, na wytrząsarce (200 rpm) w temperaturze 28°C. Oznaczano wartość plonu biomasy komórkowej (metoda wagowa), zawartość wewnątrzkomórkowego tłuszczu (metoda Bligh and Dyer) oraz zawartość karotenoidów w przeliczeniu na  $\beta$ -karoten (metoda spektrofotometryczna).

Przeprowadzone badania wykazały, że drożdże *R. gracilis* posiadają zdolność do wzrostu oraz syntezy karotenoidów i lipidów w zastosowanych podłożach doświadczalnych. Najwyższy plon po 96 godzinach hodowli stwierdzono w podłożach z 3 i 5% dodatkiem glicerolu (ok. 30 g<sub>s.s.</sub>/L). Zawartość karotenoidów w biomase drożdży podczas hodowli była stała i po 96 h wynosiła średnio 45  $\mu$ g/g<sub>s.s.</sub>. Wraz z wydłużaniem czasu hodowli zwiększała się natomiast zawartość tłuszczu w biomase komórkowej drożdży i po 96 godzinach wynosiła odpowiednio 13,52 (W3%), 14,28 (W5%) oraz 15,08% (W10%). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że drożdże *Rhodotorula gracilis* mogą stać się w przyszłości naturalnym źródłem karotenoidów i lipidów w diecie ludzi i zwierząt, a dalsze badania będą koncentrowały się na zwiększeniu wydajności biosyntezy tych składników komórkowych podczas hodowli w podłożach zawierających ziemniaczaną wodę sokową i glicerol.

**POZIOM KATELICYDINY LL-37 W SUROWICY PACJENTÓW****ZE ZDIAGNOZOWANĄ DEPRESJĄ**

Elżbieta Kozłowska<sup>1\*</sup>, Paulina Żelechowska<sup>1</sup>, Justyna Agier<sup>1</sup>, Adam Wysokiński<sup>2</sup>,

Ewa Brzezińska-Błaszczak<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Zakład Immunologii Doświadczalnej, ul. Pomorska 251, 92-213 Łódź

2) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Klinika Psychiatrii Wieku Podeszłego i Zaburzeń Psychotycznych,  
ul. Czechosłowacka 8/10, 92-216 Łódź

*email autora do korespondencji\**: elzbieta.kozlowska@stud.umed.lodz.pl

**Wstęp:** Depresja jest jednym z najczęściej występujących zaburzeń psychicznych oraz czwartym najpoważniejszym problemem zdrowotnym na świecie. Wskazuje się, że wskaźniki depresji rosną wraz z wiekiem (15% populacji powyżej 65 r.ż. cierpi na depresję). Istnieją dane, że u chorych z depresją może dochodzić do obniżenia reaktywności układu odpornościowego, co w konsekwencji może skutkować zwiększoną zapadalnością na choroby infekcyjne. Katelicydyna LL-37 jest ważnym elementem przeciwwakcyjnej odporności wrodzonej i pełni ważną funkcję w regulacji procesów zapalnych. Współuczestniczy również w przebiegu odporności nabytej i ma działanie immunomodulujące.

**Cel pracy:** Określenie poziomu katelicydiny LL-37 w surowicy pacjentów z depresją w porównaniu z grupą osób zdrowych.

**Materiał i metody:** Grupę badaną stanowiło 41 pacjentów powyżej 60 r.ż. ze zdiagnozowaną depresją. Grupę porównawczą stanowiło 41 zdrowych ochotników powyżej 60 r.ż. z wykluczonymi zaburzeniami psychicznymi. U wszystkich badanych wykluczono występowanie chorób ogólnoustrojowych, w tym o etiologii infekcyjnej. Poziom katelicydiny LL-37 w surowicy krwi oceniano metodą immunoenzymatyczną ELISA.

**Wyniki:** Wykazano istotne statystycznie ( $p=0.005099$ ) różnice w stężeniu katelicydiny LL-37 w surowicy osób z depresją i osób zdrowych. Średnie stężenie LL-37 u pacjentów z depresją wyniosło 3,49 ng/ml, a u osób zdrowych 1,66 ng/ml.

**Wnioski:** U osób ze zdiagnozowaną depresją stężenie katelicydiny LL-37 jest wyższe niż u osób zdrowych.

**WŁAŚCIWOŚCI PROZDROWOTNE BIOAKTYWNYCH SKŁADNIKÓW MIĘSA**

Bartosz Kulczyński\*, Anna Gramza-Michałowska

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Technologii Żywnienia Człowieka*

*email autora do korespondencji : bartekkulczynski@gmail.com*

W ostatnich kilkudziesięciu latach obserwuje się wzrost produkcji i spożycia mięsa i produktów mięsnych. Produkty te cechują się wysoką wartością odżywczą. Zawierają w swoim składzie pełnowartościowe białko, związki mineralne (żelazo, cynk, miedź, mangan, selen), czy też witaminy (A, B1, B2, 12, kwas foliowy, niacyna). Poza podstawowymi składnikami, mięso bogate jest w wiele związków bioaktywnych, wśród których wymienia się przede wszystkim: L-karnitynę, L-karbozynę, kwas liponowy, skoniugowany kwas linolowy (CLA), taurynę, cholinę, kreatynę, koenzym Q10, glutation, a także aktywne biologicznie peptydy. Związki te pełnią wiele ważnych funkcji biologicznych w organizmach żywych. Są ważnymi składnikami uczestniczącymi w metabolizmie węglowodanów i tłuszczów. Pośredniczą w transporcie elektronów w mitochondriach, przyczyniając się do wytwarzania energii. Wiele przeprowadzonych badań potwierdza właściwości prozdrowotne tych związków. Wskazuje się przede wszystkim na ich działanie obniżające poziom lipidów we krwi, działanie hipotensyjne i antybakteryjne. Ponadto, składniki te mają działanie przeciwzapalne i immunostymulujące gdyż biorą udział w hamowaniu produkcji cytokin prozapalnych. Chronią również ustrój przed szkodliwym działaniem wolnych rodników, zapobiegając powstawaniu stresu oksydacyjnego. Niektóre z tych związków znajdują zastosowanie w produkcji suplementów diety, które mogą być wykorzystywane we wspomaganiu leczenia określonych chorób czy zwiększaniu wydolności organizmu. Zawartość związków bioaktywnych w mięsie zależy głównie od gatunku zwierzęcia oraz części, z jakiej został pozyskany surowiec. Pomimo tego, że niektóre składniki bioaktywne obecne są w produktach mięsnych w niewielkich ilościach, to niezaprzeczalnie podnoszą ich wartość żywieniową.

## WPLYW SKŁADU PODŁOŻA HODOWLANEGO NA PROFIL AMINOKWASÓW I KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W BIOMASIE DROŻDŻY *CANDIDA UTILIS*

Agnieszka Kurcz\*, Stanisław Błażej, Anna Kot, Kamil Piwowarek

*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa*

*email autora do korespondencji\*: agnieszka\_kurcz@sggw.pl*

Potencjał biotechnologiczny drożdży od wielu lat budzi zainteresowanie naukowców, między innymi ze względu na możliwość wykorzystania tych drobnoustrojów jako producentów prozdrowotnego białka i tłuszczu. Szczególne znaczenie odgrywa zapewnienie odpowiedniego profilu kwasów tłuszczowych (nienasycone) i aminokwasów (egzogenne np. lizyna), który zależy od rodzaju wykorzystywanego szczepu i składu podłoża hodowlanego.

Celem pracy było zbadanie zdolności drożdży *Candida utilis* ATCC 9950 do produkcji białka i tłuszczu oraz określenie profilu aminokwasów i kwasów tłuszczowych podczas hodowli w podłożach z odbiałczoną ziemniaczaną wodą sokową i glicerolem

Hodowle badanych drożdży prowadzono w kolbach zawierających 100 cm<sup>3</sup> odpowiedniego podłoża: YPD (2% glukozy, 2% peptonu, 1% ekstraktu drożdżowego), odbiałczona ziemniaczana woda sokowa (1,4% cukrów redukujących, 2,2% białka ogółem) oraz woda sokowa suplementowana 5% dodatkiem glicerolu (pH 5,0, 72 h, temp. 28 °C, 200 rpm). Podczas hodowli oznaczano plon biomasy (metodą wagową), zawartość białka ogółem (m. Kjeldahla) i tłuszczu (m. Bligh and Dyer) w biomacie drożdży oraz profil aminokwasów (HPLC) i kwasów tłuszczowych (GC-FID).

W wyniku przeprowadzonej hodowli stwierdzono, że dodatek glicerolu do ziemniaczanej wody sokowej umożliwił uzyskanie wyższego plonu biomasy drożdży *C. utilis* (38,7 g·dm<sup>-3</sup>) niż w podłożach z samą wodą sokową i YPD (13,2 i 14,8 g·dm<sup>-3</sup>). Zawartość tłuszczu utrzymywała się na stałym poziomie (ok. 6%), z kolei stwierdzono niższą zawartość białka w biomacie w hodowli z dodatkiem glicerolu (25% w porównaniu do 41-44% w pozostałych hodowlach), co mogło wynikać z biosyntezy innych składników komórkowych (np. cukrów). W białku drożdżowym uzyskanym z tego podłoża stwierdzono jednak wyższą zawartość niektórych aminokwasów egzogennych, takich jak leucyna (8,62 g/100g białka) i fenyloalanina (4,21 g/100g białka). Analiza kwasów tłuszczowych wykazała najwyższą zawartość kwasu oleinowego (50-60%) i linolowego (9-13%).

## WPLYW BISFENOLU F NA ZMIANY OKSYDACYJNE I APOPTOTYCZNE LIMFOCYTÓW CZŁOWIEKA

Patrycja Okupny, Agnieszka Kuźmińska-Surowaniec\*, Jaromir Michałowicz

*Uniwersytet Łódzki, Katedra Biofizyki Skażeń Środowiska, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź  
email autora do korespondencji\*: agnkuzminska@gmail.com*

Bisfenol F (BPF) jest związkiem powszechnie stosowanym w przemyśle przy produkcji polimerów syntetycznych wykorzystywanych w produktach codziennego użytku w tym opakowaniach na żywność i wodę pitną. Narażenie ogólnopopulacyjne na BPF wynika z obecności tej substancji w żywności, wodzie pitnej, kurzu pomieszczeń mieszkalnych oraz powietrza atmosferycznym. Obszerną grupę stanowią również osoby zawodowo narażone na ten związek.

W pracy analizowano zmiany w poziomie reaktywnych form tlenu oraz uszkodzenia białek limfocytów krwi obwodowej człowieka. Ponadto, ocenie poddano wpływ BPF na zmiany apoptotyczne badanych komórek.

Komórki inkubowano przez 1 godzinę celem analizy zmian w parametrach oksydacyjnych oraz przez 4 godziny w celu określenia zmian w parametrach apoptotycznych. Uszkodzenia białek analizowano spektrofotometrycznie na podstawie zmian w poziomie grup karbonylowych. Zmiany w pozostałych parametrach określono z wykorzystaniem cytometru przepływowego przy użyciu odpowiednich znaczników fluorescencyjnych.

Przeprowadzone badania wykazały, że BPF w stężeniach od 0,4 do 50 µg/ml wzmagał reakcje wolnorodnikowe, co mogło przyczyniać się do obserwowanych w pracy uszkodzeń oksydacyjnych białek (2 – 50 µg/ml). Wykazano ponadto, że BPF w relatywnie wysokim stężeniu (100 µg/ml) wzmagał apoptozę limfocytów człowieka. Zaobserwowane w badaniu obniżenie wartości transbłonowego potencjału mitochondrialnego (50 – 100 µg/ml) pod wpływem BPF może wskazywać na zaangażowanie szlaku wewnętrznego w proces apoptotyczny indukowany przez ten związek.

Zmiany oksydacyjne w limfocytach człowieka pod wpływem BPF mogą zachodzić jedynie w warunkach narażenia zawodowego na tę substancję. Zmiany apoptotyczne stwierdzone pod wpływem BPF mogą mieć miejsce wyłącznie w przypadku zatrucia podostrego lub ostrego tym związkiem.

**BADANIE CYTOTOKSYCZNOŚCI FULERENOLU  $C_{60}(OH)_x$ ,  $x>30$  NA PBMC**

Anna Lichota\*, Anita Krokosz

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Molekularnej,  
Zakład Radiobiologii, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: alichota@biol.uni.lodz.pl*

Fulereny i fulerenole poprzez swoje właściwości antyoksydacyjne, a także regulujące ekspresję genów zaangażowanych w proces apoptozy, angiogenezy oraz stymulowanie odpowiedzi immunologicznej mogą przyczyniać się do hamowania rozrostu guza i ochrony komórek prawidłowych. Przegląd dostępnej literatury wskazuje, że w badaniach biomedycznych dużą rolę mogą odgrywać fulerenole wysokohydroksylowane, bardzo dobrze rozpuszczalne w roztworach wodnych i nie toksyczne dla większości linii komórkowych. Jednak istnieją doniesienia wskazujące na możliwą cytotoksyczność fulerenoli wobec wybranych linii komórkowych.

Celem badań jest określenie właściwości biologicznych oraz fizykochemicznych wysokohydroksylowanego fulerenolu  $C_{60}(OH)_x$ ,  $x>30$ . Mikroskopia fluorescencyjna oraz cytometria przepływowa zostały wykorzystane do określenia cytotoksyczności fulerenolu za pomocą podwójnego barwienia z kalceiną-AM i jodkiem propidyny. Do określenia zmian potencjału transbłonowego w mitochondriach zastosowano znaczniki fluorescencyjne JC-1 oraz DiOC<sub>6</sub>(3).

Uzyskane wyniki wykazały, że fulerenol w zakresie stężeń 50 - 150 mg/dm<sup>3</sup> jest w niewielkim stopniu toksyczny wobec jednojądrzastych komórek krwi obwodowej człowieka. Analiza wyników z cytometru przepływowego dowodzi, że 80% (po 1h inkubacji) i 77% (po 24h inkubacji) komórek jest żywa po potraktowaniu ich najwyższym stężeniem związku. Także zdjęcia wyznakowanych komórek spod mikroskopu fluorescencyjnego potwierdzają powyższe wyniki. Jeżeli chodzi o zmiany potencjału błony mitochondrialnej, po inkubacji z fulerenolem nie zaobserwowano spadku  $\Delta\Psi_m$ , który jest jednym z pierwszych czynników indukujących proces apoptozy w komórkach.

Podsumowując, fulerenol  $C_{60}(OH)_x$ ,  $x>30$  w zakresie stosowanych stężeń nie wpływa na potencjał błony mitochondrialnej i nie wykazuje toksyczności wobec jednojądrzastych komórek krwi obwodowej człowieka.



**DENDRYMERY PAMAM JAKO NOŚNIKI TAKSANÓW**

Monika Marcinkowska<sup>\*</sup>, Ewelina Sobierajska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji : m\_monika123@interia.eu*

Docetaksel i paklitaksel są substancjami należącymi do grupy leków przeciwnowotworowych zwanych taksanami. Działanie tych substancji jest związane z zaburzeniem podziałów komórki poprzez ich wpływ na strukturę cytoszkieletu. Mechanizm działania leków polega na zahamowaniu procesu mitozy, czego konsekwencją jest śmierć komórki na drodze apoptozy. Pomimo udokumentowanej skuteczności leczenia nowotworów z wykorzystaniem taksanów, terapia z zastosowaniem tych substancji obarczona jest wysokim ryzykiem wystąpienia działań niepożądanych.

Z tego powodu poszukuje się innowacyjnych metod redukcji skutków ubocznych. Interesującym rozwiązaniem jest zastosowanie dendrymerów PAMAM- polimerów charakteryzujących się trójwymiarową i rozgałęzioną strukturą. Monodispersyjność i łatwość modyfikowania dendrymerów PAMAM sprawiają, iż znajdują one zastosowanie jako potencjalne nośniki leków.

W związku z tym zbadano działanie koniugatów dendrymerów i leków przeciwnowotworowych na komórki raka piersi. W badaniach wykorzystano dendrymer PAMAM 4 generacji, docetaksel, paklitaksel oraz koniugat PAMAM-DOCETAKSEL, PAMAM-PAKLITAKSEL.

**WPLYW PODCHLORYNU NA STRUKTURĘ WŁÓKNIKA**

Justyna Matczak\*, Paweł Nowak

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

email autora do korespondencji\*: [jmatczak@biol.uni.lodz.pl](mailto:jmatczak@biol.uni.lodz.pl)

Fibryna utworzona z fibrynogenu modyfikowanego przy użyciu kwasu podchlorynowego (HOCl) charakteryzuje się zmienionym tempem polimeryzacji. Podchloryn w warunkach *in vivo* wytwarzany jest lokalnie w miejscach zranienia, zapalenia, czy infekcji i stanowi element naturalnej odpowiedzi immunologicznej. HOCl wytwarzany jest przez neutrofile i monocyty w wyniku reakcji nadtlenu wodoru z anionami chlorkowymi pod wpływem mieloperoksydazy. Celem działania podchlorynu są patogeny, ale wpływa on także na białka w komórkach gospodarza, co dodatkowo potęguje uszkodzenia powstające w wyniku procesu zapalnego. W zależności od stosowanej dawki HOCl, jakim traktowane są próbki fibrynogenu dochodzi do zahamowania fibrynolizy, co może być powiązane z zwiększeniem gęstości włókien, zmniejszeniem ich średnicy oraz zredukowaną porowatością skrzepu fibryny.

Celem prowadzonych badań była analiza obrazów włóknika uzyskanych z skaningowego mikroskopu elektronowego, które posłużyły do oceny gęstości, grubości włókien i ich przestrzennego ułożenia. Strukturę skrzepu fibrynowego analizowano z zastosowaniem elektronowego mikroskopu skaningowego Phenom Pro. Żele fibryny (stężenie fibrynogenu 1 mg/ml i trombiny 0,2 U/ml) utrwalano glutaraldehydem i odwodniono w szeregu rozcieńczeń etanolu. Uzyskane wyniki wskazują, że zmodyfikowany oksydacyjnie fibrynogen prowadzi do tworzenia włóknika o zmienionej, patologicznej strukturze. Zdjęcia wskazują, że włóknik zbudowany jest z silnie upakowanych, usieciowanych i cienkich włókien fibryny, co sugeruje jego mniejszą przenikalność. Prawdopodobnie wpływa to na zwiększoną podatność skrzepu fibryny na pękanie, ze względu na jego większą sztywność, a to z kolei sprzyja rozwojowi powikłań zakrzepowo-zatorowych.

**ANALIZA PORÓWNAWCZA STRUKTURY CHEMICZNEJ LIPIDÓW  
A *P. MIRABILIS* 1 B-M O78 ORAZ 9 B-M O11 Z HODOWLI PLANKTONICZNEJ  
I BIOFILMOWEJ ZA POMOCĄ SPEKTROSKOPII MASOWEJ MALDI-TOF**

Dominik Matusiak<sup>1\*</sup>, Agnieszka Zabłotni<sup>1</sup>, Magda Moryl<sup>1</sup>, Anna Maciejewska<sup>2</sup>,  
Czesław Ługowski<sup>2</sup>, Antoni Różalski<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław

email autora do korespondencji\*: matusiak@acer.biol.uni.lodz.pl

Wstęp i cel pracy: *Proteus mirabilis* to gatunek oportunistycznych bakterii, często odpowiedzialnych za infekcje układu moczowego, zwłaszcza związanych z cewnikowaniem (CAUTI). Bakterie te zasiedlając powierzchnię cewnika tworzą biofilm. Celem pracy było zbadanie, czy lipid A lipopolisacharydów *P. mirabilis* pochodzący z komórek rosnących w biofilmie, wykazuje różnice pod względem budowy chemicznej w porównaniu do lipidu A form planktonicznych, tj. bakterii hodowanych w podłożu płynnym.

Materiały i metody: Biomasa planktoniczną bakterii uzyskano w hodowli aerowanej (24 godz., 37°C) na bulionie wzbogaconym (3,75 g / l, BTL). Biomasa z biofilmu otrzymano na tym samym podłożu w szklanym, autoklawowalnym bioreaktorze z ciągłym przepływem podłoża (1 ml / min.) z pionowo ustawionymi szklanymi płytkami, z których zbierano warstwę biofilmu. Hodowlę biofilmu prowadzono przez 72 godz. w 37°C w warunkach mikroaerofilnych. LPSy wyekstrahowano z mas bakteryjnych zmodyfikowaną metodą wg Westphala. LPSy podano hydrolizie 2% kwasem octowym na gorąco. Analizę lipidów A przeprowadzono przy zastosowaniu spektrometrii masowej MALDI-TOF. Widma masowe rejestrowano w trybie ujemnym, używając jako matrycy 9H-pirydo(3,4-b) indolu – 1% roztwór w acetonitrylu, połączony z równą objętością wody.

Wyniki i wnioski: Analiza porównawcza nie wykazała różnic w preparatach pochodzących z hodowli płynnej i z biofilmu obu szczepów oraz między badanymi szczepami. Zaobserwowano dwa dominujące jony: 1824 oraz 2063 (m/z). Jon 1824 od jonu 2063 różni się brakiem cząsteczki kwasu palmitynowego. Charakterystyczny składnik lipidu A *P. mirabilis* – 4-N-arabinozę, zbadaną i opisaną przez Sidorczyka (Sidorczyk Z., 1983, Eur. J. Biochem. 137:15-22), zaobserwowano w jonach 1955, 1648, 1438, wykazujących słabą intensywność.

**SYNTEZA I WŁAŚCIWOŚCI PORFIRAZYNY ORAZ FTALOCYJANINY CYNKOWEJ  
INKORPOROWANYCH W MATERIAŁ MEZOPOROWATY SBA-15  
O POTENCJALNYM ZASTOSOWANIU W BADANIACH BIOMIMETYCZNYCH**

Joanna Nowicka<sup>1\*</sup>, Michał Kryjewski<sup>1</sup>, Tomasz Gośliński<sup>2</sup>, Jadwiga Mielcarek<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,  
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

2) Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Katedra i Zakład Technologii Chemicznej Środków Leczniczych,  
ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

email autora do korespondencji\*: joannanowi@gmail.com

Ftalocyjaniny i porfirazyny są związkami syntetycznymi, stanowiącymi strukturalne analogi naturalnie występujących porfiryn. Związki te posiadają szereg interesujących właściwości, takich jak intensywna barwa, zdolność do generowania tlenu singletowego czy właściwości półprzewodnikowe. Ftalocyjaniny wykorzystywane są m.in. jako barwniki, katalizatory i fotouczulacze w terapii fotodynamicznej. Dzięki strukturalnej analogii do porfiryn, a także zdolności do wytwarzania pod wpływem światła reaktywnych form tlenu związki porfiryńoidowe szczególnie nadają się do badań biomimetycznych, w tym do analizy metabolizmu ksenobiotyków oraz ich produktów rozkładu.

Przeprowadzono syntezę pochodnych porfirazyn i ftalocyjanin, posiadających w centrum koordynacyjnym jony cynku(II). Otrzymane związki zostały inkorporowane w materiale mezoporowatym SBA-15 z wykorzystaniem dwóch metod: (1) adsorpcji z roztworu oraz (2) syntezy *in situ*. Działanie takie ma na celu zapobieganie agregacji związku, która zmniejsza zdolność generowania tlenu singletowego. Ponadto, umożliwia to ponowne użycie katalizatora i uproszczenie procesu oddzielenia katalizatora od mieszaniny reakcyjnej.

Otrzymane kompleksy z SBA-15 scharakteryzowano z wykorzystaniem metod m.in. różnicowej skaningowej kalorymetrii, termograwimetrii. W celu sprawdzenia użyteczności otrzymanych kompleksów jako systemu do prowadzenia reakcji oksydacji naświetlano roztwory wiązką światła i izolowano powstałe produkty. Aby ocenić, który z kompleksów wykazuje najwyższą aktywność fotokatalityczną wykorzystano 1,3-difenyloizobenzofuran jako chemiczny wygaszacz tlenu singletowego.

*Badania finansowane przez Narodowe Centrum Nauki - 2012/05/N/NZ7/01803.*

**EFEKT DZIAŁANIA IMMUNOSUPRESYJNEGO CYKLOFOSFAMIDU  
PODAWANEGO DOOTRZEWNOWO MYSZOM C57BL/6 NA ICH WYBRANE  
PARAMETRY ŻYCIOWE**

Elżbieta Ograczyk\*, Karolina Grela, Magdalena Kowalewicz-Kulbat, Marek Fol

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: ela.ograczyk@gmail.com*

Cyklofosfamid (CTX) należy do leków cytostatycznych o działaniu alkilującym. Znalazł szerokie zastosowanie w transplantologii oraz leczeniu chorób nowotworowych i autoimmunologicznych. Jego działanie opiera się na hamowaniu aktywacji limfocytów T i produkcji przeciwciał przez limfocyty B.

Celem pracy było porównanie efektu działania CTX podanego dootrzewnowo w dawce 20 i 50  $\mu\text{g/g}$  masy ciała na wagę, aktywność proliferacyjną splenocytów oraz obraz morfologiczny rozmazów krwi u myszy C57BL/6.

Zwierzęta doświadczalne podzielono na 4 grupy otrzymujące CTX w dawce 20 i 50  $\mu\text{g/g}$  m.c. zarówno codziennie, jak i co 2 dzień. Grupę kontrolną stanowiły myszy niepoddawane immunosupresji. Każdorazowo podczas podania leku myszy ważono. Aktywność proliferacyjna splenocytów była oceniana z użyciem izotopu 3-H tymidyny oraz mitogenu konkanawaliny A. Obraz morfologiczny krwi oceniano na podstawie wyliczonego indeksu leukocytnego.

Odnotowano spadek masy ciała myszy w przypadku codziennego podania CTX w dawce 50  $\mu\text{g/g}$  m.c. w porównaniu do tej samej dawki podawanej co 2 dzień oraz dawki 20  $\mu\text{g/g}$  m.c. podawanej zarówno codziennie, jak i co 2 dzień. Zaobserwowano również spadek aktywności proliferacyjnej splenocytów przy podaniu CTX w dawce 20 i 50  $\mu\text{g/g}$  m.c. zarówno przy podaniu codziennym, jak i co 2 dzień. Nie odnotowano różnic w obrazie morfologicznym krwi.

Wnioskując, codzienne podanie CTX w dawce 50  $\mu\text{g/g}$  m.c. skutkowało wywołaniem największego efektu immunosupresyjnego manifestującego się spadkiem masy ciała i obniżoną aktywnością proliferacyjną splenocytów.

*Praca została sfinansowana w ramach projektu nr 2013/11/B/NZ6/01304*

**WPLYW BIOTYNY NA AKTYWNOŚĆ METABOLICZNĄ BAKTERII*****PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII* T82**

Kamil Piwowarek<sup>1\*</sup>, Edyta Lipińska<sup>1</sup>, Elżbieta Hać-Szymańczuk<sup>1</sup>, Anna Maria Kot<sup>1</sup>,  
Agnieszka Kurcz<sup>1</sup>, Sylwia Swacha<sup>1</sup>, Artur Kalinowski<sup>2</sup>

1) Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa

2) Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Zakład Technologii Mięsa i Tłuszczu, ul. Jubilerska 4, 04-190 Warszawa

email autora do korespondencji\*: kamil\_piwowarek@sggw.pl

*Propionibacterium sp.* należą do drobnoustrojów o znacznych wymaganiach hodowlanych. Oprócz podstawowych związków wzrostowych (źródła węgla i azotu), bakterie te wymagają dodatku substancji stymulujących, w tym: soli mineralnych (jony żelaza, magnezu, kobaltu, manganu, miedzi), witaminy B<sub>5</sub>, aminokwasów i biotyny - niezbędnej w biosyntezie kwasu propionowego.

Celem badania było określenie wpływu dodatku różnych dawek biotyny na wzrost i aktywność metaboliczną bakterii *Propionibacterium freudenreichii* T82

Podłoża hodowlane suplementowano: biotyną (0 – 0,0005 g/L), peptonem (10 g/L), ekstraktem drożdżowy (5 g/L), chlorowodorkiem L-cysteiny (0,4 g/L), wodorofosforanem potasu (1,5 g/L) i wodorofosforanem dipotasu (2,5 g/L). Źródło węgla w pożywkach stanowiły glukoza (4,2 g/L), sacharoza (16,6 g/L) i fruktoza (4,2 g/L). Kwasowość czynną (pH) ustalono na poziomie 6,8-7. Podłoża zaszczerpiono szczepem *P. freudenreichii* T82. Podczas hodowli trwającej 120 godzin (temp. 30°C) oznaczano wzrost drobnoustrojów – metodą turbidymetryczną (pomiar gęstości optycznej hodowli oznaczono przy długości fali 550 nm), kwasowość lotną - metodą miareczkowania alkacymetrycznego (destylację prowadzono z parą wodną przez 10 minut w aparacie BÜCHI Labortechnik AG), i zawartość węglowodanów - metodą Millera (próbki zhydrolizowano, dodano 1,5 mL odczynnika DNS i wstawiono na 5 minut do temperatury 100°C, absorbancję względem próby kontrolnej zmierzono przy długości fali 550 nm).

Dodatek 0,0002 g/L i 0,0003 g/L biotyny wpływał korzystnie na wzrost biosyntezy kwasów do 96 godziny hodowli. Największą produkcję osiągnięto poprzez suplementację podłoża 0,0003 g/L biotyny. W 120 godzinie najwyższy poziom wytwarzania metabolitów zaobserwowano w podłożu bez dodatku biotyny. W przypadku dawek witaminy powyżej 0,0003 g/L stwierdzono znaczne obniżenie biosyntezy kwasów. Biotyna wpływa korzystnie na wzrost produkcji kwasów w procesie fermentacji propionowo-octowej.

**ROLA NISKOCZĄSTECzkOWYCH INHIBITORÓW KINAZY PERK****W LECZENIU CHOROBY ALZHEIMERA**

Wioletta Rozpedek<sup>1\*</sup>, Łukasz Markiewicz<sup>1</sup>, Dariusz Pytel<sup>2,3</sup>, J. Alan Diehl<sup>2,3</sup>, Ireneusz Majsterek<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Wydział Wojskowo-Lekarski, Zakład Chemii i Biochemii Klinicznej,  
pl. Hallera 1, 90-647 Łódź, Polska

2) Department of Cancer Biology, AFM, Perelman School of Medicine, University  
of Pennsylvania, PA 19104, USA

3) Department of Biochemistry and Molecular Biology, Hollings Cancer Center, Medical University of South  
Carolina, Charleston, SC 29425, USA

email autora do korespondencji\*: wioletta.rozpedek@stud.umed.lodz.pl

Podłoże molekularne choroby Alzheimera związane jest z aktywacją szlaku Adaptacyjnej Odpowiedzi na Stres (UPR) w wyniku stresu Retikulum Endoplazmatycznego (ER) wywołanego przez nagromadzenie w lumen ER błędnie sfałdowanych białek. Aktywna wówczas RNA-like endoplasmic reticulum kinaza PERK fosforyluje czynnik inicjacji translacji eIF2 $\alpha$ , co prowadzi do inhibicji translacji większości białek w komórce oraz wydajniejszej translacji wybranych mRNA takich jak te kodujące czynnik transkrypcyjny ATF4 oraz enzym sekretazę beta. Długotrwała aktywacja PERK prowadzi do nadmiernego gromadzenia białka prekursorowego amyloidu (APP), a następnie płytek beta-amyloidowych, co w konsekwencji odgrywa kluczową rolę w progresji choroby Alzheimera.

Celem prezentowanego doświadczenia było określenie roli transmembranowej kinazy PERK w rozwoju choroby Alzheimera oraz scharakteryzowanie jej specyficznych niskocząsteczkowych inhibitorów. Spośród 80 000 związków potencjalnie skierowanych przeciwko kinazie PERK na podstawie wysokowydajnych badań przesiewowych TRF opartych na zjawisku FRET wyłoniono 209 związków do dalszych analiz. Ich zdolność do hamowania aktywności wyłącznie kinazy PERK była mierzona poprzez ocenę fosforylacji kinazy PERK oraz eIF2 $\alpha$  w stężeniach od 250 nM do 5000 nM za pomocą radiometrycznego testu kinazowego. Największą aktywność inhibicyjną wykazał przy stężeniu 5000 nM i powyżej inhibitor oznaczony numerem 1.

Uzyskane wyniki potwierdziły, że wyłączenie aktywności PERK za pomocą jej niskocząsteczkowych inhibitorów warunkuje spadek poziomu ufosforylowanego czynnika eIF2 $\alpha$  uruchamiającego szlak sygnałowy w komórkach nerwowych zaangażowany w inicjację procesów neurodegeneracyjnych w chorobie Alzheimera.

Praca została sfinansowana z grantu HARMONIA nr 2013/10/M/NZ1/00280 przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki oraz przez Uniwersytet Medyczny w Łodzi z zadania badawczego nr 502-03/5-108-05/502-54-170.

**BOGATE W KLOWAMIDY EKSTRAKTY ROŚLINNE JAKO INHIBITORY  
AKTYWACJI PŁYTEK KRWI - WSTĘPNA OCENA WPŁYWU  
NA PROCES ADHEZJI *IN VITRO***

Małgorzata Sieradzka<sup>1\*</sup>, Joanna Kołodziejczyk-Czepas<sup>1</sup>, Paweł Nowak<sup>1</sup>,  
Dariusz Jędrejek<sup>2</sup>, Anna Stochmal<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biochemii Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź

2) Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Biochemii i Jakości  
Plonów, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy

email autora do korespondencji\*: msieradzka@biol.uni.lodz.pl

Klowamid (N-kawoilo-L-3,4-dihydroksyfenyloalanina, N-kawoildopamina, N-kawoilo-L-DOPA) jest naturalnym, roślinnym związkiem fenolowym – pochodną kwasu kawowego (3,4-dihydroksycynamonowego). Aktywność biologiczna klowamidu i jego pochodnych jest poznana tylko w niewielkim zakresie, ale dostępne dane wskazują, że związki te posiadają m.in. właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe oraz prawdopodobnie przeciwzakrzepowe.

Celem pracy była ocena wpływu ekstraktów roślinnych (uzyskanych z koniczyń: *Trifolium clypeatum*, *T. obscurum* i *T. squarrosum*) bogatych w klowamidy oraz komercyjnego klowamidu (1-50 µg/ml) na proces adhezji płytek krwi do fibrynogenu *in vitro*.

Adhezję płytek (stymulowanych trombiną (0,01 jNIH/ml) oraz spoczynkowych) badano metodą statyczną, z zastosowaniem kwasu bis-cynchoninowego (BCA). Ocenie poddano także wpływ ekstraktów oraz klowamidu na proces generowania dialdehydu malonowego (MDA) w płytkach krwi. Uzyskane wyniki wskazują, że badane ekstrakty bogate w klowamidy hamują adhezję płytek krwi do fibrynogenu. Ponadto, zaobserwowano, że zarówno klowamid, jak i badane ekstrakty ograniczają generowanie MDA w płytkach krwi aktywowanych trombiną (0,4 jNIH/ml).

Wstępne oznaczenia sugerują, że badane związki mogą hamować proces aktywacji płytek krwi. Spadek generowania MDA w płytkach poddanych działaniu klowamidu oraz badanych ekstraktów wskazuje na działanie badanych substancji na szlak przemian kwasu arachidonowego.

Praca finansowana ze środków statutowych Katedry Biochemii Ogólnej UŁ (506/1136) i Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach (Zakł. Biochemii i Jakości Plonów).



## PODSTAWNIKI METYLOIMIDAZOŁOWE JAKO MODYFIKATORY WŁAŚCIWOŚCI FIZYKO-CHEMICZNYCH POCHODNYCH FTALOCYJANINY CYNKU(II)

Lidia Sierpowska<sup>1</sup>, Piotr Gierlich<sup>1</sup>, Marcin Śmiechowski<sup>1</sup>, Paulina Skupin-Mrugalska<sup>1\*</sup>, Marcin Wierzchowski<sup>2</sup>, Jadwiga Mielcarek<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

2) Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra Technologii Chemicznej Środków Leczniczych, ul. Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań

email autora do korespondencji : p\_skupin@wp.pl

Ftalocyjaniny należą do fotouczulaczy drugiej generacji. Dzięki rozbudowanej strukturze makrocyklicznej i obecności układu sprzężonych wiązań podwójnych, silnie absorbują promieniowanie o długości fali powyżej 600 nm. Maksima ich absorpcji obejmują zakres tzw. „okna terapeutycznego”, co powoduje, że cieszą się dużym zainteresowaniem jako potencjalne fotouczulacze w terapii fotodynamicznej. Natomiast istotną wadą ftalocyjanin jest hydrofobowy charakter, słaba rozpuszczalność, tworzenie nieaktywnych fotodynamicznie agregatów. Dlatego ftalocyjaniny są poddawane chemicznym modyfikacjom, m.in. syntetyzowane są liczne pochodne oraz koniugaty ftalocyjanin, które charakteryzują się zwiększoną hydrofilowością i biokompatybilnością.

Celem przedstawianych prac badawczych była ocena właściwości fizyko-chemicznych trzech metaloftalocyjanin podstawionych grupami (1-metylo-1H-imidazo-2-ilo) sulfanilowymi. Analizowane ftalocyjaniny zawierały w centrum koordynacyjnym, odpowiednio jon miedzi(II), cynku(II) oraz manganu(III). Charakterystyka ftalocyjanin obejmowała: (i) wyznaczenie molowych współczynników absorpcji w różnych rozpuszczalnikach, w celu oceny czułości chromoforów w strukturach ftalocyjanin, (ii) analizę fotostabilności i wyznaczenie parametrów kinetycznych fotodegradacji po ekspozycji na światło, (iii) określenie wydajności kwantowej generowania tlenu singletowego metodą pośrednią z zastosowaniem chemicznego wygaszacza tlenu singletowego. Uzyskane wyniki zostały porównane względem modelowej ftalocyjaniny, tj. ftalocyjaniny cynku(II).

*Badania zostały wykonane w ramach środków przyznanych na finansowanie działalności polegającej na prowadzeniu badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców: nr 502-14-03307415-50590.*

## **DENDRYMERY KARBOKRZEMOWO-WIOLOGENOWO-FOSFOROWE JAKO NOŚNIKI siRNA**

Aleksandra Szwed\*, Katarzyna Miłowska, Teresa Gabryelak

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Biofizyki Ogólnej,  
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: [szwed.aleksandra@wp.pl](mailto:szwed.aleksandra@wp.pl)*

Interferencja RNA jest komórkowym mechanizmem wyciszania genów, polegającym na specyficznej degradacji mRNA, indukowanym przez małe interferujące RNA (siRNA). Zidentyfikowanie cząsteczek biorących udział w tym procesie przyczyniło się do szybkiego rozwoju badań z wykorzystaniem tego zjawiska w terapii różnych chorób, w tym nowotworów. Jednakże, wyciszanie danego genu wymaga dostarczenia do komórki siRNA, w nienaruszonej, czyli aktywnej formie. W tym celu, niezbędny jest efektywny, nietoksyczny dla komórek i selektywny nośnik chroniący cząstki siRNA. Nowe niewirusowe wektory siRNA, obejmują m.in. liposomy, micelle, kropki kwantowe czy kationowe dendrymery.

Celem pracy było ustalenie, czy dendrymery karbokrzemowo-wiologenowo-fosforowe mogą być nośnikami antyapoptotycznych siRNA.

Dendrymery zostały skompleksowane z siRNA (siBcl-xl, siBcl-2, siMcl-1), które zostały zaprojektowane do wyciszania antyapoptotycznych genów w komórkach nowotworowych. Ocena interakcji między kompleksami dwóch generacji dendrymerów hybrydowych z siRNA (dendrypleksami), a linią ludzkich komórek nowotworowych HL-60 została określona na podstawie testu cytotoksyczności - Alamar Blue i MTT.

*Badania zostały sfinansowane przez NANOGENE - FP7-PEOPLE-2012-IRSES 7<sup>th</sup> FP.*

## **ZASTOSOWANIE MICELARNYCH EKSTRAKTÓW SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNEJ W MEDYCYNIE**

Anna Taraba\*, Magdalena Szaniawska, Katarzyna Szymczyk

*Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie, Wydział Chemii, Katedra Chemii Fizycznej,  
Zakład Zjawisk Międzyfazowych, Pl. M. Curie-Skłodowskiej 3, 20-031 Lublin*

*email autora do korespondencji\*: anna.taraba@poczta.umcs.lublin.pl*

Związki powierzchniowo czynne (surfaktanty) to substancje, które gromadząc się na granicy faz, powodują zmianę już przy bardzo niskich stężeniach właściwości powierzchniowych cieczy, w których są rozpuszczone. Związki te w ich roztworach, po przekroczeniu stężenia granicznego zwanego krytycznym stężeniem micelizacji (CMC) asocjują, w wyniku czego powstają agregaty o wymiarach koloidalnych, tzw. micelle. Micelarne roztwory surfaktantów mają zdolność solubilizacji, czyli przeprowadzania substancji hydrofobowych, trudno rozpuszczalnych lub nierozpuszczalnych w wodzie, do roztworu surfaktantu o stężeniu przekraczającym CMC.

Jedną z najnowszych metod pozyskiwania aktywnych składników pochodzenia roślinnego o dużym stężeniu, np. związków fenolowych, kwercetyny, jest ekstrakcja micelarna.

Kwercetyna jako wszechobecny związek roślinny występuje w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego, takich jak herbata, soki owocowe, wino czy miód. Dzięki swojej budowie kwercetyna wykazuje wiele właściwości, które wpływają pozytywnie na organizm człowieka. Ze względu na słabą rozpuszczalność kwercetyny w wodzie, a tym samym ograniczoną wchłanianiałość jej w organizmie ludzkim poszukuje się metody, która pozwoli na pozyskiwanie naturalnej kwercetyny z roślin. Naturalna kwercetyna jest lepiej przyswajalna przez człowieka.

Zbadano wodne roztwory kwercetyny z dodatkiem surfaktantu niejonowego Tweenu 80.

**POLIMORFIZM GENU IL-18 (-607C/A) W AKTYWNYM I UTAJONYM  
ZAKAŻENIU PRĄTKAMI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS***

Sebastian Wawrocki\*, Marcin Włodarczyk, Wiesława Rudnicka, Magdalena Druszczyńska

Uniwersytet Łódzki, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Zakład Immunologii Komórkowej,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: sebastian.wawrocki@gmail.com

Wstęp. Pomimo intensywnych badań, interakcje pomiędzy *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) i makroorganizmem zachodzące na poziomie molekularnym i komórkowym pozostają słabo zrozumiałe. Polimorfizm zasad w obrębie sekwencji regulatorowych genu interleukiny 18 (IL-18), mogący wpływać na wiązanie białkowych czynników transkrypcyjnych, może skutkować zaburzeniem ekspresji i aktywności IL-18.

Cel. Ocena polimorfizmu genu IL-18 w pozycji -607C/A w aktywnym i utajonym zakażeniu prątkami *M.tb*.

Metodyka. Badaniami objęto 297 osób dorosłych zamieszkujących Łódź oraz region łódzki, w tym 1) pacjentów z czynną gruźlicą płuc, 2) ochotników zakażonych latentnie *M.tb*, z wykluczoną aktywną gruźlicą 3) osoby z wykluczonym zakażeniem *M.tb*, nigdy nie chorujące na gruźlicę. Polimorfizm genu kodującego IL-18 oznaczono metodą PCR z wykorzystaniem allelospecyficznych par starterów. Produkty amplifikacji zostały poddane elektroforezie w 2% żelu agarozowym i wizualizacji w systemie Gel Doc 2000.

Wyniki. Uzyskane wyniki nie wykazały różnic w częstości występowania genotypów i alleli IL-18(-607C/A) wśród pacjentów z gruźlicą i osób zdrowych. Badając dystrybucję genotypów w zależności od stopnia ekspozycji na prątki wykazano znamienne częstsze występowanie genotypu C/C wśród osób ze słabą ekspozycją na prątki niż u pozostałych grup. Wśród osób z tej grupy genotyp ten obserwowano częściej wśród osób z tej grupy u osób z utajonym zakażeniem *M.tb* niż u osób nie zakażonych prątkami.

Wnioski. Otrzymane wyniki, będące wstępem do szerzej zakrojonych badań, mogą sugerować potencjalnie istotną rolę polimorfizmu IL-18(-607C/A) w osobniczej podatności i utrwalaniu się zakażenia *M.tb*.

## ENDOGENNE RETROWIRUSY ŚWIŃSKIE (PERV) - PROBLEM ZAKAŻEŃ W KSENOTRANSPLANTACJI

Emilia Wojdas\*, Nikola Zmarzły, Beniamin Grabarek, Urszula Mazurek

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny  
Laboratoryjnej, Katedra i Zakład Biologii Molekularnej, ul. Poniatowskiego 15, 40-055 Katowice

email autora do korespondencji\*: emilia.wojdas@med.sum.edu.pl

Niewydolność lub całkowite uszkodzenie narządów wewnętrznych jest zjawiskiem, z jakim medycyna boryka się od dawna. Problem długiego czasu oczekiwania pacjentów na transplantację jest nadal aktualny i generuje potrzebę poszukiwania alternatywnych źródeł pozyskiwania tkanek i narządów do przeszczepu. Ksenotransplantacje polegające na przeszczepach odzwierzęcych gwarantują praktycznie nieograniczony dostęp do źródła organów. Wygenerowanie transgeniczných świń domowych, które pozwala aktualnie na terapeutyczne wykorzystanie ksenotransplantatów nie wydaje się jednak do końca tak bezpieczne, jak zakładano. Przeszczep tego typu niesie ze sobą ryzyko przeniesienia na biorcę odzwierzęcej infekcji wirusowej, której przyczyną są endogenne retrowirusy świńskie PERV (ang. *Porcine Endogenous Retrovirus*). Biorca- człowiek z jednej strony narażony jest na powikłania związane z samym zabiegiem (immunosupresja, obniżenie odporności), a z drugiej na negatywne skutki infekcji wirusami PERV (wyciszenie lub aktywowanie genów komórek oraz indukowanie procesu transformacji nowotworowej zainfekowanej komórki).

Endogenne retrowirusy świń stanowią nie tylko źródło obcych antygenów, ale są również integralną częścią materiału genetycznego tych zwierząt. W genomie PERV wyróżnia się 3 subtypy: PERV-A, PERV-B, PERV-C. Obecność PERV-A i PERV-B stwierdzono we wszystkich badanych stadach, natomiast nie wszystkie osobniki świń wykazują obecność PERV-C. Subtyp ten generuje możliwość powstania rekombinantu PERV A/C, co może być potencjalnym zagrożeniem dla zdrowia biorcy. Z uwagi na to zjawisko tkanka wykazująca ekspresję PERV C jest bezwzględnie odrzucana.

Należy skupić działania na dobieraniu właściwej strategii, mającej na celu zwalczanie i zapobieganie wirerii, a tym samym rozszerzania się PERV. Ryzyko powikłań można niwelować metodami pozwalającymi na wyciszenie ekspresji PERV (głównie subtypu C) w konkretnej tkance przeznaczonej do ksenotransplantacji.

**REAKCJE KOMPLEKSOWANIA BIOCZĄSTECZEK W ROZTWORACH WODNYCH**

Michał Zabiszak<sup>\*</sup>, Martyna Nowak

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii, ul. Umultowska 89b, 61-614 Poznań*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: zabiszakm@amu.edu.pl*

Biocząsteczki występujące w organizmach żywych należą do cząsteczek, które oprócz swoich ról pełnionych w metabolizmie stanowią potencjalne ligandy, które koordynują do jonów biometali. Do biomolekuł tego typu zaliczamy między innymi nukleozydy i nukleotydy, aminokwasy, kwasy owocowe, składowe kwasu hialuronowego czy też poliaminy.

Kwas cytrynowy, który należy do grupy kwasów owocowych, pełni kluczową rolę w metabolizmie makrocząsteczek będąc związkiem pośrednim w cyklu Krebsa. Bierze udział w fizjologicznym utlenianiu tłuszczów, białek i węglowodanów do dwutlenku węgla i wody. Spermina, poliamina występująca w organizmach żywych, stabilizuje błony komórkowe, aktywuje niektóre enzymy oraz katalizuje biosyntezę białek i kwasów nukleinowych. Zaobserwowano, że najwyższe stężenie sperminy występuje w komórkach młodych oraz komórkach nowotworowych. W skład komórek ludzkiego ciała wchodzi jony metali, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jony metali należące zarówno do makro- i mikroelementów występują w około jednej trzeciej enzymów i pełnią w nich kluczową rolę modyfikując przepływ elektronów między substratem a produktem. Do organizmu wprowadzane są także jony metali w postaci terapeutyków (np. związki kompleksowe srebra) lub w trakcie diagnostyki medycznej (pierwiastki metali ziem rzadkich).

Przeprowadzone badania potencjometryczne w układach podwójnych jon metalu/biocząsteczka wykazały tworzenie się połączeń koordynacyjnych. Wykorzystując komputerową analizę danych pH-metrycznych (program HYPERQUAD) określono skład oraz ogólne stałe trwałości otrzymanych kompleksów.

**BIODEGRADACJA KARWEDILOLU PRZEZ GRZYBY STRZĘPKOWE****Z RODZAJU *CUNNINGHAMELLA***

Katarzyna Zawadzka<sup>\*</sup>, Katarzyna Lisowska

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Mikrobiologii Przemysłowej  
i Biotechnologii, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [zawadzka@biol.uni.lodz.pl](mailto:zawadzka@biol.uni.lodz.pl)

Karbazol jest trójpierścieniowym aromatycznym związkiem N-heterocyklicznym powszechnie używanym w syntezie antybiotyków, antagonistów różnych receptorów oraz leków przeciwnowotworowych. Związek ten charakteryzuje się wysoką toksycznością zarówno wobec kręgowców jak i bezkręgowców. Przykładem leku zawierającego pierścień karbazolu w swojej strukturze jest karwedilol stosowany jako nieselektywny bloker receptorów  $\beta_1$  i  $\beta_2$ -adenergicznych. Zablokowanie receptorów  $\beta$  zmniejsza pojemność wyrzutową i minutową serca, zmniejsza zużycie tlenu przez mięsień sercowy, zmniejsza aktywność reninową osocza oraz hamuje uwalnianie noradrenaliny. Jego dodatkowe działanie polega na blokowaniu receptora  $\alpha_1$ .

$\beta$ -blokerzy stanowią bardzo ważną grupę substancji o potencjalnie toksycznym i niebezpiecznym oddziaływaniu na organizmy wodne. W licznych badaniach wykazano obecność receptorów betaadrenergicznych u ryb. Badania ekotoksykologiczne potwierdziły wysoką toksyczność  $\beta$ -blokerów wobec *Daphnia magna*. Mimo, iż ich pozostałości obecne są w ekosystemach w bardzo niskich stężeniach to w wyniku ich ciągłej emisji mogą długotrwale oddziaływać na organizmy żywe. Metabolizm leków zawierających pierścień karbazolu w środowisku naturalnym jest bardzo słabo poznany, dlatego zasadne jest podjęcie badań dotyczących ich degradacji przez bakterie i grzyby strzępkowe.

Celem badań była ocena eliminacji karwedilolu przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Cunninghamella*. Degradację karwedilolu oceniono z wykorzystaniem technik chromatografii cieczowej (LC-MS/MS) sprzężonej ze spektrometrią mas. Uzyskane wyniki potwierdziły, że szczepy *C. elegans* IM 1785/21Gp oraz *C. echinulata* IM 2611 wydajnie eliminują karwedilol ze środowiska swojego wzrostu. W przypadku obu szczepów stwierdzono obecność hydroksylowanych pochodnych karwedilolu.

# **STRESZCZENIA**

## **Sesja**

### **Fizjologia i biotechnologia roślin**



## ZWIĄZKI BIOLOGICZNIE AKTYWNE W ROŚLINACH

Dr hab. inż. Joanna Leszczyńska

*Politechnika Łódzka, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Instytut Podstaw Chemii Żywności,*

Rośliny stanowią podstawę prawidłowej, dobrze zbilansowanej diety współczesnego człowieka. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się odpowiedniej jakości żywności oraz prawidłowemu żywieniu, szczególnie pod kątem zapobiegania chorobom dietozależnym, będących epidemią XXI wieku. Wysoka jakość żywności to przede wszystkim odpowiednia zawartość składników żywieniowych: tłuszczów, białek i węglowodanów, ale również zawartość różnych związków biologicznie aktywnych i ich wzajemne proporcje.

Substancje bioaktywne to podstawowe składniki odżywcze, a także związki nieodżywcze, naturalnie występujące w surowcu lub w produkcie poddanym procesowi technologicznemu (np. produkty reakcji Maillarda), które wpływają na funkcje fizjologiczne i metaboliczne organizmu (wzmacniają, osłabiają lub modyfikują). W związku z powyższym związki biologicznie czynne można podzielić na korzystne i niekorzystne. Związki korzystne, z których wiele występuje naturalnie w produktach żywnościowych, są to: niektóre oligosacharydy, probiotyki, prebiotyki, synbiotyki, poliole – alkohole wielowodorotlenowe, aminokwasy, peptydy, białka, wielonienasycone kwasy tłuszczowe, witaminy i składniki mineralne, cholina i lecytyna, substancje fitochemiczne.

Wykład dotyczy głównie antyoksydantów, ich źródeł występowania oraz wpływu na zdrowie człowieka. Antyoksydanty to związki, najczęściej metabolity wtórne, które mogą być produkowane w odpowiedzi na stres środowiskowy. W warunkach stresu rośliny produkują również białka obronne, z których część ma właściwości alergenne. Kolejna część wykładu poświęcona jest alergenom roślinnym. Alergenami są najczęściej glikoproteidy o masie cząsteczkowej 10-70 kDa, odporne na skrajne pH, enzymy trawienne i temperaturę. Część z nich występuje powszechnie w wielu organizmach i wykazuje dużą homologię, przyczyniając się do występowania reakcji krzyżowych. Omówione będą alergeny wybranych owoców, zbóż i roślin przyprawowych, ich budowa i mechanizm działania.

W żywności pochodzenia roślinnego mogą się znaleźć również naturalne związki o działaniu niepożądanym, wywołujące reakcje nadwrażliwości pokarmowej. Do takich związków należą np. aminy biogenne, w tym przede wszystkim histamina, kwas benzoesowy, salicylany i nikiel.

Ostatnia część wykładu będzie poświęcona związkom o wybitnie silnym działaniu toksycznym tzn. toksynom naturalnym.

Wiele ze składników bioaktywnych posiada właściwości antynowotworowe, przeciwzapalne czy antyoksydacyjne, a regularne ich spożycie chroni nas przed chorobami cywilizacyjnymi. Niektóre jednak mogą wywołać szkodliwe reakcje, czasem o bardzo dużym nasileniu.

**FIZJOLOGICZNE ASPEKTY STOSOWANIA NANOSREBRA W KULTURACH  
IN VITRO RZEPAKU (*BRASSICA NAPUS* L.): WPŁYW NANOCZĄSTEK  
NA CYKL KOMÓRKOWY**

Karol Bocian\*, Elwira Śliwińska, Magdalena Tomaszewska-Sowa

*Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy, Wydział Rolnictwa  
i Biotechnologii, Al. prof. S. Kaliskiego 7, 85-796 Bydgoszcz*

*email autora do korespondencji\* : karolbocian@interia.pl*

Nanotechnologia jest jedną z najszybciej rozwijających się dziedzin nauki, a nanomateriały znalazły szerokie zastosowanie zarówno w życiu codziennym człowieka, jak i w wielu gałęziach przemysłu. Przejście do skali „nano” powoduje spotęgowanie już istniejących, jak również uzyskanie zupełnie nowych właściwości fizycznych, chemicznych oraz biologicznych nanomateriałów.

Nanocząstki srebra, posiadają bardzo silne właściwości bakterio- i grzybobójcze dzięki czemu z powodzeniem można wykorzystać je jako czynnik eliminujący kontaminację tkankowych kulturach tkankowych i komórkowych roślin. Obecność nanocząstek srebra w pożywce może jednakże wpływać na podziały komórkowe oraz może determinować bezwzględną zawartość DNA w roślinach.

W przeprowadzonym eksperymencie wykorzystano sferyczne nanocząstki srebra (18-20 nm) w stężeniach 10, 15, 25 oraz 35 ppm, jako dodatek do pożywki, na której inokulowano nasiona rzepaku. Analiza cytometryczna siewek rosnących na pożywkach wzbogaconych o nanocząstki srebra wykazała wyraźną tendencję wpływu stężenia nanocząstek srebra na średnią ploidalność jąder korzeni oraz na bezwzględną zawartość DNA w liściach rzepaku w stosunku do kontroli.

Aslani F., Bagheri S., Julkapli N.M., Juraimi A.S., Hashemi F.S.G., Baghdadi A.: 2014. Effects of Engineered Nanomaterials on Plants Growth: An Overview. The Scientific World Journal, 28.  
Śliwińska E.: 2008. Zastosowanie cytometrii przepływowej do oznaczania zawartości DNA u roślin. Postępy Biologii Komórki, 35 (24), 165-176.

**WPLYW BIEWĘGLA NA WZROST I PLONOWANIE ROŚLIN SADOWNICZYCH**

Mateusz Frąc<sup>\*</sup>, Lidia Sas-Paszt, Paweł Trzciniński, Edyta Derkowska

*Instytut Ogrodnictwa, ul. Kostytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [mateusz.frac@inhort.pl](mailto:mateusz.frac@inhort.pl)*

Biowęgiel to uwęglona w temperaturze od 250°C do 1200°C biomasa, otrzymana najczęściej z odpadów drzewnych lub biomasy roślin. Biowęgiel cieszy się coraz większym zainteresowaniem w różnych gałęziach gospodarczych. Potwierdzony został jego pozytywny wpływ jako polepszacza glebowego, zwiększającego zawartość substancji organicznej (SO) i pulę organicznego węgla (OC) w glebie. Biowęgiel poprawia warunki powietrzno-glebowe, niweluje efekt zmęczenia gleby, wpływa na zwiększenie aktywności mikroorganizmów i mezofauny glebowej. Od maja 2014 r. w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach kontynuowane są doświadczenia z zastosowaniem biowęglu w uprawie roślin sadowniczych, t.j. jabłoni, brzoskwini i nektaryny. Wyniki uzyskane w 2015 roku wskazują na pozytywny wpływ aplikacji biowęglu na wzrost i plonowanie roślin sadowniczych, w porównaniu do drzew nie traktowanych biowęglem. Doglebowa aplikacja biowęglu wiosną 2014 r. (w dawce 1,6 kg/drzewo) wpłynęła na istotne zwiększenie wzrostu wegetatywnego i plonowania drzew jabłoni i brzoskwini w sezonie 2015. Zastosowanie biowęglu poprawiło stan odżywienia roślin w składniki mineralne, zwiększyło masę i pole powierzchni liści oraz zawartość materii organicznej i węgla organicznego w glebie. System korzeniowy pod wpływem aplikacji biowęglu był lepiej rozwinięty z dużą liczbą korzeni drobnych, w porównaniu do słabiej uformowanych korzeni drzew kontrolnych (nie traktowanych biowęglem). W porównaniu do drzew kontrolnych, aplikacja biowęglu wpłynęła na istotne zwiększenie średnicy wiązek przewodzących ksylemu oraz na podwyższoną syntezę i akumulację ziaren skrobi w komórkach kory korzeni drzew jabłoni, brzoskwini i nektaryny. Zaaplikowany biowęgiel wpłynął także na poprawę statusu wodnego gleby i roślin, co w dużym stopniu ograniczało negatywne dla roślin skutki suszy w 2015 roku. Aplikacja biowęglu jest skuteczną metodą ograniczania wpływu stresu suszy u roślin, a także znajduje zastosowanie w bioremediacji gleb uprawnych i zdegradowanych. Badania w tym zakresie będą kontynuowane w kolejnych latach, w celu potwierdzenia wpływu biowęglu na wzrost i plonowanie roślin sadowniczych oraz poprawę żyzności gleby.

**IDENTYFIKACJA GENÓW POTENCJALNIE ZAANGAŻOWANYCH  
W AKUMULACJĘ CYNKU W „KOMÓRKACH MAGAZYNUJĄCYCH”  
MEZOFILU LIŚCI TYTONIU**

Katarzyna Kozak<sup>\*</sup>, Anna Papierniak, Danuta Maria Antosiewicz

*Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: katarzyna.kozak@biol.uw.edu.pl*

Jednym z czynników warunkujących tolerancję roślin na cynk jest zdolność gromadzenia wysokich stężeń tego metalu w liściach bez objawów toksyczności. Najnowsze badania wskazują, iż zdolność gromadzenia Zn w blaszce liściowej tylko w „komórkach magazynujących” chroni sąsiadujące komórki nieakumulujące przed toksycznym działaniem nadmiaru tego metalu. Zróznicowanie komórek w obrębie pozornie jednorodnej tkanki mezofilu pod względem ich zdolności do akumulacji cynku umożliwia gromadzenie dużych ilości cynku w blaszce bez szkody dla całego organu.

Celem badań jest identyfikacja molekularnych mechanizmów różnicujących komórki mezofilu w liściach tytoniu pod względem ich zdolności do akumulacji cynku, odpowiedzialnych za jego gromadzenie w „komórkach magazynujących”. Pierwszym etapem badań mających prowadzić do zrealizowania założeń projektu było wytypowanie sekwencji genów kodujących transportery metali poprzez przeprowadzenie analizy bioinformatycznej genomu tytoniu *Nicotiana tabacum* (dostępny od kwietnia 2014 roku). W tym celu wykorzystano narzędzia i programy takie, jak: blastn<sup>1</sup>, Fgenesh<sup>2</sup>, MultAlin<sup>3</sup>. Następnie porównano ekspresję zidentyfikowanych genów w mezofilu liści roślin rosnących w warunkach kontrolnych oraz w obecności wysokiego stężenia cynku w pożywce. Wykazanie różnic w ich ekspresji (znaczące różnice w odniesieniu do warunków kontrolnych) pozwoliło wskazać kandydatów na geny kodujące transportery cynku, potencjalnie zaangażowane w zróznicowany załadunek nadmiaru Zn do „komórek magazynujących” w mezofilu.

*Badania są realizowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w ramach projektu HARMONIA (NZ3/00527).*

<sup>1</sup> [https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE\\_TYPE=BlastSearch](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch)

<sup>2</sup> <http://www.softberry.com/berry.phtml?topic=fgenesh&group=programs&subgroup=gfind>

<sup>3</sup> <http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>

## WPLYW ZANIECZYSZCZENIA GLEBY METALAMI CIĘŻKIMI NA WYBRANE GATUNKI ROŚLIN JADALNYCH

Kamila Kulbat<sup>\*</sup>, Agnieszka Szczodrowska, Dorota Mańkowska, Joanna Leszczyńska

*Politechnika Łódzka, Instytut Podstaw Chemii Żywności, ul. B. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: kamila.kulbat@wp.pl*

Zanieczyszczenie środowiska metalami ciężkimi jest jednym z najpoważniejszych problemów ekologicznych w skali światowej. Szczególnie niebezpieczne jest skażenie gleb przeznaczonych pod uprawy, położonych w pobliżu dużych zakładów przemysłowych oraz arterii komunikacyjnych. Z uwagi na możliwość migracji w powietrzu, glebie i wodzie, a także kumulacji w kolejnych ogniwach łańcucha pokarmowego, obecność metali ciężkich w środowisku stanowi poważny problem zarówno dla ekosystemów naturalnych, jak również dla zdrowia i życia ludzkiego.

Celem prezentowanej pracy jest określenie wpływu stresu abiotycznego, wywołanego obecnością jonów metali ciężkich w podłożu (niklu, miedzi i cynku) na wybrane gatunki roślin z rodziny jasnotowatych (*Lamiaceae*) - bazylii pospolitej (*Ocimum basilicum*) i lebidki pospolitej (*Origanum vulgare*) oraz rodziny kapustowatych (*Brassicaceae*) - pieprzycy siewnej (*Lepidium sativum*). Gleba pod uprawę została skażona wymienionymi metalami w stężeniach dopuszczalnych przez Rozporządzenie Ministra Środowiska z 2002 r.

Analizie zostały poddane parametry biochemiczne odzwierciedlające stres na poziomie komórkowym. Zbadano stopień kumulacji poszczególnych metali w nadziemnych częściach roślin, jak również zmiany w zawartości barwników chloroplastowych. Ocenie poddano stężenia reaktywnych form tlenu i azotu w komórkach roślinnych, jak również zawartość antyoksydantów zaangażowanych w ich metabolizm. Analiza stężeń wymienionych metabolitów, wraz z oznaczeniem dialdehydu malonowego, będącego markerem uszkodzeń błon biologicznych, jak również analiza zawartości białek i proliny, pozwala na całościową ocenę wpływu zanieczyszczenia gleby na zmiany biochemiczne zachodzące w komórkach wybranych roślin.

**GENY ZIP W ROŚLINACH TYTONIU (*NICOTIANA TABACUM*)**

Małgorzata Palusińska<sup>\*</sup>, Anna Barabasz, Anna Papierniak, Danuta Maria Antosiewicz

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [m.palusińska@biol.uw.edu.pl](mailto:m.palusińska@biol.uw.edu.pl)

Regulacja homeostazy cynku w organizmach roślinnych jest ściśle powiązana z homeostazą innych metali, w tym kadmu. Do tej pory nie udało się jednoznacznie ustalić które białka uczestniczą w translokacji cynku (Zn) i kadmu (Cd) z korzeni do pędów w zależności od ich wzajemnego stężenia. Bez wątpienia proces ten jest regulowany przez wiele genów.

Białka transporterowe zaliczane do rodziny ZIP (ZRT- and IRT-like Protein) zaangażowane są w przenoszenie przez błony biologiczne cynku i kadmu. U *Nicotiana tabacum* transporter z rodziny ZIP w dalszym ciągu nie są poznane. Wiadomo, że u innych roślin np. w korzeniach *Arabidopsis thaliana* podczas deficytu cynku obserwowano wzrost ekspresji ZIP1-ZIP5, ZIP7-ZIP12, IRT3 a u *Thlaspi caerulescens* ZIP4, ZIP10 i IRT3.

Celem doświadczenia jest zrozumienie mechanizmów regulujących translokację cynku i kadmu uzależnionej od stężenia metali a także poznanie funkcji poszczególnych transporterów ZIP zaangażowanych w ten proces. Prezentowane badania są częścią grantu mającego na celu określenie udziału transporterów ZIP w translokacji Zn i Cd z korzeni do pędów tytoniu.

Na podstawie homologii najlepiej poznanych u roślin białek ZIP z *Arabidopsis thaliana* do sekwencji nukleotydowych tytoniu (*Nicotiana tabacum*) w istniejących bazach danych, wybrano scaffoldy AWOK000000000 które zawierają sekwencje genów kodujące potencjalne transportery ZIP u tytoniu. Przy pomocy narzędzi bioinformatycznych przeanalizowano te scaffoldy i zaprojektowano specyficzne startery dla analizy ekspresji genów kodujących w tytoniu potencjalne białka ZIP.

Wykorzystując metodę RealTime-qPCR zbadano poziom ekspresji zidentyfikowanych genów w korzeniach roślin tytoniu (*Nicotiana tabacum*) traktowanych różnymi (niskimi i wysokimi) stężeniami Zn i Cd. Na podstawie uzyskanych wyników wybrano geny ZIP, które potencjalnie uczestniczą w transporcie transbłonowym Zn i Cd.

**GENOTYPOWANIE PRZEZ SEKWENCJONOWANIE I MAPOWANIE GENETYCZNE  
MARKERÓW CECH UŻYTKOWYCH W GENOMIE ŁUBINU WĄSKOLISTNEGO  
(*LUPINUS ANGUSTIFOLIUS* L.)**

Elżbieta Rudy\*, Bogdan Wolko

*Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań*

*email autora do korespondencji\*: erud@igr.poznan.pl*

Łubin wąskolistny jest gatunkiem, którego uprawa niesie szereg korzyści. Dzięki symbiozie z bakteriami z rodzaju *Bradyrhizobium*, nie wymaga nawożenia azotowego, palowy system korzeniowy pozyskuje składniki mineralne z głębokich warstw gleby, a pozostające na polach resztki poźniwe, wzbogacają glebę w materię organiczną. Nasiona łubinu wąskolistnego są bogate w białko (34% suchej masy) i błonnik, stanowiąc alternatywę w żywieniu zwierząt dla importowanej śruty sojowej.

W ramach projektu SEGENMAS (2015-2018) finansowanego z Programu Badań Stosowanych NCBiR, podjęto się wygenerowania puli markerów cech użytkowych, istotnych w selekcji nowych odmian łubinu. W tym celu, zostało przeprowadzone doświadczenie szklarniowe na 220 liniach łubinu wąskolistnego. Materiał roślinny obejmował zarówno odmiany hodowlane, jak i dzikie populacje, pochodzące z kilku kontynentów. Izolat RNA pozyskany z liści, posłużył do kluczowego etapu badań, tj. genotypowania przez sekwencjonowanie końców cDNA metodą MACE (ang. *Massive Analysis of cDNA Ends*). Dzięki tej metodzie zostanie wygenerowanych kilkanaście tysięcy markerów, zakotwiczonych w sekwencjach genów. Kolejnym etapem będzie lokalizacja otrzymanych markerów na referencyjnej mapie genetycznej łubinu wąskolistnego odmiany Tanjil 1. Analiza bioinformatyczna wyników MACE, obejmie m.in. adnotacje sekwencji z użyciem transkryptomów referencyjnych innych gatunków łubinu (*L. albus* i *L. luteus*) oraz analizę sekwencji w dostępnych bazach danych. Wyniki przeprowadzonych prac, pozwolą na selekcję najbardziej wydajnych w uprawie linii łubinu i wprowadzenie do sprzedaży nowych, bardziej użytecznych i odpornych na choroby odmian łubinu wąskolistnego.

Yang H, Tao Y, Zheng Z, Zhang Q, Zhou G, Sweetingham MW, et al. Draft genome sequence, and a sequence-defined genetic linkage map of the legume crop species *Lupinus angustifolius* L. PLoS ONE. 2013;8:e64799.



## ENDOGENNE STĘŻENIE GLUTATIONU MARKEREM W IDENTYFIKACJI GENOTYPÓW ŻYTA (*SECALE CEREALE* L.) PODATNYCH NA ANDROGENEZĘ

Kamil Zieliński<sup>1</sup>, Iwona Żur<sup>1</sup>, Ewa Pociecha<sup>2</sup>, Monik Krzewska<sup>1</sup>, Anna Nowicka<sup>1</sup>,  
Jozsef Fodor<sup>3</sup>, Ewa Dubas<sup>1\*</sup>

1) Instytut Fizjologii Roślin Polskiej Akademii Nauk, Niezapominajek 21, 30-239 Kraków, Polska

2) Uniwersytet Rolniczy, Katedra Fizjologii Roślin, ul. Podłużna 3, 30-239 Kraków, Polska

3) Centrum Badań Rolniczych, Węgierska Akademia Nauk, Instytut Ochrony Roślin, Herman Ottóút 15,  
H-1022, Budapeszt, Węgry

email autora do korespondencji\*: e.dubas@ifr-pan.edu.pl

Glutation, trójepeptyd  $\gamma$ -glutamylcysteinyloglicyna, scharakteryzowano jako nieenzymatyczny antyoksydant biorący udział w utrzymaniu równowagi redoks w komórkach organizmów żywych. Dane literaturowe i doświadczenia prowadzone w IFR PAN w Krakowie sugerują, że zredukowana forma glutationu (GSH) może być wykorzystywana do łagodzenia różnego typu stresów biotycznych i abiotycznych, skutkujących akumulacją reaktywnych form tlenu. Efekt ten obserwowano m.in. w przypadku stresu wywołanego przez traktowanie roślin niską temperaturą, indukującą proces androgenезы, który zmienia rozwój mikrospor, z gametofitowego na sporofitowy. Niestety, zbyt duży poziom stresu, powoduje uszkodzenie mikrospor, a nawet ich śmierć (Żur i wsp. 2014). W tej sytuacji, możliwość regulowania poziomu GSH w mikrosporach może stanowić niezmiernie ważny czynnik wspomagający efektywną indukcję androgenезы, nawet u gatunków scharakteryzowanych jako 'oporne'.

Celem niniejszej pracy było znalezienie korelacji pomiędzy endogennym stężeniem GSH, a podatnością na indukcję androgenезы u wybranych genotypów żyta ozimego (*Secale cereale* L. ssp. *cereale*).

Do badań wybrano 15 mieszańców pokolenia F1 udostępnionych przez polskie spółki hodowli roślin. Do indukcji androgenезы zastosowano technikę kultur pylnikowych wg Immonen i Tenhola-Roininen (2003). Do pomiaru glutationu wykorzystano metodę spektrofotometryczną Ellman i wsp. (1961).

Badane linie żyta różniły się podatnością na indukcję androgenезы oraz stężeniem zredukowanego GSH w pylnikach, który to parametr może być wskaźnikiem wykorzystywanym do oceny genotypów żyta pod względem podatności na haploidyzację w kulturze pylników. Wykazano, że traktowanie egzogennym GSH, może stymulować efektywność tego procesu u 'opornych' genotypów.

*Eksperymenty sfinansowano w ramach badań statutowych IFR PAN T1Zb1/2015, T1Zb1/2016 oraz w ramach Postępu Biologicznego w Produkcji Roślinnej MRiRW82 (HOR hn-801-PB-14/15).*

Ellman GL i wsp. 1961. *Biochem Pharmacol* 7:88–90; Immonen S, Tenhola-Roininen T. 2003. W: Maluszynski M i wsp. (red) *A Manual*. Kluwer, Dordrecht, Boston, London, 141-150; Żur I i wsp. 2014. *Plant Cell Tiss Org* 119(1):79-94.

**WPLYW ŻYWIENIA AMONOWEGO NA METABOLIZM REAKTYWNYCH FORM  
TLENU U MUTANTÓW *ARABIDOPSIS THALIANA* Z DYSFUNKCJĄ OKSYDAZY  
NADPH**

Maria Burian\*, Anna Podgórska, Bożena Szal

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

email autora do korespondencji\*: [mburian@biol.uw.edu.pl](mailto:mburian@biol.uw.edu.pl)

Hodowla większości roślin uprawnych na podłożu zawierającym jony amonowe ( $\text{NH}_4^+$ ) jako jedyne źródło azotu powoduje zahamowanie wzrostu. Zaburzenia rozwoju spowodowane długotrwałym działaniem jonów amonowych określa się mianem „syndromu amonowego”. Zmiany w równowadze oksydoredukcyjnej zachodzące podczas żywienia amonowego mogą prowadzić do zwiększonego wytwarzania reaktywnych form tlenu (ROS). Na skutek zwiększonej produkcji ROS może dochodzić do uszkodzenia struktur komórkowych. Wzrost roślin jest w dużej mierze uwarunkowany przez procesy zachodzące w ścianie komórkowej. Za regulację wzrostu elongacyjnego komórek odpowiedzialne są m.in. ROS, które przyczyniają się do usztywniania lub rozluźniania ściany komórkowej. Oksydaza NADPH (RBOH) jest głównym enzymem odpowiedzialnym za produkcję ROS do przestrzeni pozakomórkowej (apoplastu). Celem pracy było określenie zmian w metabolizmie ROS u roślin transgeniczných z wyciszonym genem *rbohD* lub *rbohF* podczas żywienia amonowego.

Długotrwała hodowla roślin (8 tygodni) na  $\text{NH}_4^+$  powodowała zahamowanie wzrostu roślin dzikich oraz mutantów RBOH D i F. Wykazaliśmy, że metabolizm ROS u badanych mutantów nie różnił się znacząco od metabolizmu ROS roślin kontrolnych. Wydaje się zatem, że dysfunkcja izoform RBOH nie wpływa na mechanizm odpowiedzialny za zahamowanie wzrostu roślin na podłożu z  $\text{NH}_4^+$ .

Praca finansowana z projektu nr 2014/13/B/NZ3/00847, kierownik: Bożena Szal.

## MOLEKULARNE PODSTAWY ZMIAN TRANSLOKACJI ZN DO PĘDU W OBECNOŚCI CD

Klaudia Cieślik\*, Anna Barabasz, Danuta Maria Antosiewicz

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

email autora do korespondencji\*: [klaudia.m.cieslik@gmail.com](mailto:klaudia.m.cieslik@gmail.com)

Kontrola translokacji metali z korzenia do pędu to ważny proces dla przystosowania rośliny do zmiennych warunków składu mineralnego podłoża. Zaangażowane są w to procesy transportu transbłonowego uczestniczące w pobieraniu metali, ich gromadzeniu i redystrybucji z wewnątrzkomórkowych kompartmentów, a także w usuwanie do apoplastu. W pobieraniu metali i utrzymywaniu wewnętrznej homeostazy zaangażowane są transportery transbłonowe metali oraz związki kompleksujące. Zależność procesów zaangażowanych w regulację metabolizmu każdego metalu od obecności innych zwana jest homeostazą krzyżową (ang. *Cross-homeostasis*).

Konsekwencją tych zależności jest wzajemne kompetycyjne oddziaływanie metali na procesy pobierania, transportu krótko- i długodystansowego w roślinie, oraz zdolność do ich gromadzenia w tkankach i organach. Niekorzystnym następstwem jest z kolei zjawisko hamowania translokacji do pędów Zn (mikroelementu niezbędnego do prawidłowego wzrostu i rozwoju rośliny) w obecności Cd (metal balastowego) w podłożu co prowadzi do niedoboru cynku. Ostatnie nasze badania sugerują, że u tytoniu w obecności niskiego jak i wysokiego stężenia Cd w pożywce dochodzi do stymulacji translokacji Zn a nie jego hamowania. Zauważono, że takiemu zjawisku towarzyszy zróżnicowany poziom ekspresji dwóch genów zlokalizowanych w korzeniu z rodziny ZIP (*ZRT-IRT-like Protein*): *NtZIP1* i *NtZIP4*. W niniejszej pracy przedstawiono zależność pomiędzy poziomem Zn w pożywce, a zdolnością rośliny do akumulacji Cd w korzeniach i pędach tytoniu. Do pomiarów stężenia metali zastosowano technikę atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA). Rolę genów *NtZIP1* i *NtZIP4* w korzeniu w regulacji tej zależności analizowano metodą Real-Time qPCR.

## ZMIANY WŁAŚCIWOŚCI ANTYOKSYDACYJNYCH ROSZPONKI WARZYWNEJ DOŚWIELTLANEJ ŚWIATŁEM LED O RÓŻNEJ CHARAKTERYSTYCE SPEKTRALNEJ

Olga Długosz-Grochowska\*, Renata Wojciechowska, Anna Habela

*Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Instytut Biologii Roślin  
i Biotechnologii, Zakład Botaniki i Fizjologii Roślin, Al.29 Listopada 54, 31-425 Kraków*

*email autora do korespondencji\*: odlugosz@ogr.ur.krakow.pl*

Niedostateczna ilość światła może przyczynić się do obniżenia wielkości i jakości plonu warzyw uprawianych w szklarniach w okresie jesienno-zimowym. Aktualne badania wskazują na możliwość zastosowania lamp LED do doświetlania uzupełniającego w uprawach pod osłonami, jednak wiedza na temat wpływu światła diodowego na cechy biochemiczne poszczególnych gatunków roślin wciąż wymaga uzupełnień.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu doświetlania światłem LED na wybrane właściwości antyoksydacyjne dwóch odmian roszponki warzywnej (*Valerianella locusta* L.) 'Noordhollandse' oraz 'Hollandischer', uprawianej w szklarni zimą. Testowane były cztery typy lamp LED różniące się udziałem światła czerwonego (R,  $\lambda=660$  nm) i niebieskiego (B,  $\lambda=440$  nm) w emitowanym spektrum: (1) 100% R, (2) 90% R + 10% B, (3) 80% R + 20% B, (4) 70% R + 30% B. Rośliny kontrolne doświetlano wysokopiętną lampą sodową (HPS). Roszponkę doświetlano przez 45 dni w cyklu 16h dzień/ 8h noc. Natężenie napromieniowania na poziomie roślin wynosiło ok.  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . W otrzymanym materiale roślinnym analizowano potencjał antyoksydacyjny (FRAP), zdolność zmiatania rodnika DPPH, a także zawartość kwasu askorbinowego i polifenoli.

Badania wykazały różną reakcję testowanych odmian roszponki warzywnej na zastosowane doświetlanie. Odmiana 'Noordhollandse' akumulowała najwięcej kwasu askorbinowego i związków fenolowych, a także odznaczała się najwyższą aktywnością antyoksydacyjną i antyrodnikową w efekcie doświetlania kombinacją 80% R + 20% B. Natomiast u odmiany 'Hollandischer' najwyższą aktywnością antyoksydacyjną i antyrodnikową oraz wysoką koncentracją związków fenolowych charakteryzowały się rośliny doświetlane światłem 90% R + 10% B.

*Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową (DS3500).*

## DOBOWA DYNAMIKA ZAWARTOŚCI WĘGLOWODANÓW W IGŁACH SOSNY ZWYCZAJNEJ (*PINUS SYLVESTRIS* L.)

Artur Jankowski\*, Tomasz Wyka

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Instytut Biologii Eksperymentalnej,  
Zakład Botaniki Ogólnej, ul Umultowska 89, 61-614 Poznań*

*email autora do korespondencji\*: artjan@amu.edu.pl*

Zawartość węglowodanów w liściach podlega fluktuacjom w skali dobowej. Na podstawie licznych badań prowadzonych przede wszystkim na zielnych roślinach uprawnych stwierdzono akumulację skrobi lub węglowodanów rozpuszczalnych w ciągu dnia oraz degradację skrobi i eksport węglowodanów z liści w ciągu nocy. Taki model dobowych fluktuacji węglowodanów został powszechnie zaakceptowany, mimo że liczne grupy funkcjonalne roślin, zwłaszcza drzewiastych, są jeszcze słabo pod tym względem przebadane. Celem niniejszych badań było poznanie zmian w stężeniu skrobi i cukrów rozpuszczalnych zachodzących w ciągu doby w igłach sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris*, gatunku o liściach zimozielonych.

Igły wszystkich (2-3) roczników obecnych na drzewie pobierano, co 2 godziny przez okres pełnej doby w dwóch terminach: na początku sezonu wegetacyjnego, gdy charakteryzują się one wysoką zawartością skrobi oraz pod koniec sezonu wegetacyjnego tj. w okresie tzw. „bezsrobiowym”. Zawartość cukrów rozpuszczalnych oznaczana była przy wykorzystaniu metody antronowej, zaś zawartość skrobi przy wykorzystaniu hydrolizy enzymatycznej i reakcji z o-anizydyną.

Na początku sezonu wegetacyjnego poziom zarówno cukrów rozpuszczalnych jak i skrobi był istotnie wyższy niż pod koniec sezonu wegetacyjnego. Podczas gdy poziom skrobi nie przejawiał wyraźnych fluktuacji dobowych, to cukry rozpuszczalne akumulowały się w ciągu dnia a ich poziom obniżał się nocą. Zmiany te były szczególnie silne wiosną.

Wyniki te wskazują, że dobowy dynamika zawartości węglowodanów w igłach sosny odbiega od modelu powszechnie przyjętego dla roślin zielnych.

**SYGNAŁY KOMUNIKACJI KORZENIE-LIŚCIE U SIEWEK SORGA****W WARUNKACH STRESU CHŁODU**

Katarzyna Kaczanowska<sup>\*</sup>, Franciszek Janowiak

*Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Niezapominajek 21, 30-239 Kraków*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: k.kaczanowska@ifr-pan.edu.pl*

W związku ze znaczącym wpływem globalnych zmian klimatycznych na warunki rozwoju roślin, sorgo ze względu na specyficzne cechy, wydaje się być najlepszym kandydatem dla zrównoważonej produkcji bioenergii w Europie. Głównym czynnikiem ograniczającym uprawę sorga jest jego niska tolerancja na chłód. W wyższych szerokościach geograficznych Europy, zbyt niskie temperatury w kwietniu/maju mogą powodować poważne uszkodzenia siewek sorga albo nawet ich śmierć.

Doświadczenia przeprowadzono na siewkach dwóch linii sorga (M71, SS79) rosnących w komorach wzrostowych w 25/20°C (dzień/noc). W fazie 3-5 liści siewki poddano chłodzeniu przez okres 5 dni w 14/12°C (dzień/noc). Bezpośrednio przed i w trakcie chłodzenia zmierzono stężenie kwasu abscysynowego [ABA], określono pH w soku ksylemu części nadziemnych siewek tuż nad korzeniem oraz stan szparek trzech pierwszych liści.

[ABA] soku ksylemu siewek sorga obu linii było podobne w warunkach kontrolnych. Jednak po 4 h chłodzenia [ABA] wzrosło istotnie, chociaż wzrost ten był dużo większy u linii odporniejszej na chłód (M71) w porównaniu z linią względnie wrażliwszą na ten stres (SS79). Temu gwałtownemu wzrostowi [ABA] soku ksylemu towarzyszyła jego alkalizacja. Wartość pH soku ksylemu dla obu linii wzrosła już po 4 h chłodzenia. W drugim dniu chłodzenia aparaty szparkowe, które początkowo otwały się pod wpływem chłodu, zostały z powrotem zamknięte.

Wyraźny wzrost pH soku ksylemu w warunkach chłodu u sorga jest ważnym jonowym sygnałem komunikacji korzenie-liście. Działa jako pułapka anionowa dla ABA, skutecznie zwiększając sekwestrowanie ABA do soku ksylemu i jego transport do liści. Zwiększony transport ABA do liści działa jako adaptacyjny sygnał hormonalny, inicjujący ekspresję wielu genów oraz przymknięcie się szparek i zmniejszenie strat wody wskutek transpiracji.

*Badania sfinansowane ze środków statutowych IFR PAN w ramach T3ZB10/2015.*

## MELATONINA JAKO BIOSTYMULATOR ZIARNIAKÓW KUKURYDZY CUKROWEJ (*ZEa MAYS L.*)

Izabela Kołodziejczyk<sup>\*</sup>, Małgorzata M. Posmyk

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Ekofizjologii i Rozwoju Roślin,  
ul. Banacha 12/14, 90-237 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: izka.kolo@gmail.com*

Melatonina (N-acetyl-5-metoksytryptamina; MEL), jest naturalną wysoce konserwatywną, biologicznie czynną cząsteczką świata zwierząt i roślin. Jest ona istotna w czasie rozwoju wegetatywnego jak i kwitnienia, owocowania a także starzenia roślin. Okazuje się, że bierze udział w ich obronie przed stresami. Stężenie MEL w różnych gatunkach roślin i tkankach waha się od pg do ng na gram tkanki. Najwyższy poziom MEL odnotowano w organach generatywnych, zwłaszcza w nasionach. Ponieważ tkanka zarodka jest wysoce wrażliwa na uszkodzenia oksydacyjne, MEL może stanowić istotny element nieenzymatycznego systemu antyoksydacyjnego w stosunkowo suchym środowisku tkanek nasion. Rośliny poza zdolnością biosyntezy endogennej MEL, mogą absorbować egzogenną MEL i kumulować ją w tkankach. Ta ostatnia cecha pozwoliła na efektywną aplikację MEL do ziarniaków kukurydzy cukrowej (porównywane warianty: C, H, HMe150, HMe1500).

Praca stanowi podsumowanie dotychczasowych badań prowadzonych w ramach doktoratu. Opisane zostały efekty hydrokondycjonowania nasion kukurydzy, kiełkujących w warunkach optymalnych (24h, 25°C) oraz stresu chłodu (14d, 5°C). Doświadczenia prowadzone były na poziomie fizjologicznym, jak i molekularnym – proteomicznym. Pierwszy obejmował porównanie zdolności i tempa kiełkowania nasion, wigoru siewek oraz plonowania roślin. W drugim badano zmiany zachodzące w syntezie i ekspresji białek podczas kiełkowania badanych wariantów nasion. Pozytywny skutek aplikacji MEL został udokumentowany u roślin traktowanych odpowiednio dobranym, optymalnym stężeniem MEL na obu tych poziomach, a otrzymane wyniki świadczą o fitobiostymulujących właściwościach tej indolaminy.

**AKUMULACJA NIEENZYMATYCZNYCH ZWIĄZKÓW ANTYOKSYDACYJNYCH  
W WARUNKACH STRESU WODNEGO U CZTERECH GATUNKÓW  
Z RODZAJU *SILENE* (*CARYOPHYLLACEAE* JUSS.)**

Aleksandra Koźmińska\*, Ewa Hanus-Fajerska

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa,  
Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii, al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

email autora do korespondencji\*: akozminska@ogr.ar.krakow.pl

Do mechanizmów współodpowiedzialnych za tolerancję roślin na różnego rodzaju stresy środowiskowe zalicza się aktywację systemu antyoksydacyjnego, zarówno systemu enzymatycznego (dysmutaza ponadtlenkowa, katalaza, peroksydaza, reduktaza glutationowa), jak i nieenzymatycznego (witaminy C i E, karotenoidy, flawonoidy i związki fenolowe itp.). Zbadano wpływ stresu wodnego na parametry wzrostowe oraz akumulację karotenoidów, flawonoidów i związków fenolowych u gatunków należących do rodzaju *Silene*: *S. vulgaris*, *S. sclerocarpa*, *S. latifolia* i *S. gallica*. Stres wodny był indukowany poprzez całkowity brak nawadniania roślin przez okres 4 tygodni. Rośliny kontrolne podlewano 2 razy w tygodniu. Długość pędów w warunkach stresowych była podobna u wszystkich badanych gatunków. Procentowa zawartość wody była najmniejsza w biomasie *S. vulgaris*. Stres wodny doprowadził do wzrostu zawartości sumy związków fenolowych u *S. vulgaris*, *S. sclerocarpa* i *S. latifolia* i do spadku u *S. gallica*. Zawartość flawonoidów uległa zmniejszeniu w dwóch testowanych gatunkach, zwiększyła się u jednego z gatunków i pozostała taka sama u roślin kontrolnych i nienawadnianych w przypadku *S. vulgaris*. Poziom karotenoidów został zredukowany u wszystkich gatunków w warunkach stresu wodnego. W przeciwieństwie do tego, co podaje literatura na temat odpowiedzi roślin na stres wodny, przedstawiony eksperyment pokazuje, że mechanizm tolerancji roślin z rodzaju *Silene* niekoniecznie musi być wynikiem podwyższonej aktywności systemu antyoksydacyjnego w komórkach liści. Można spekulować, że mechanizmy odpowiedzialne za tolerancję gatunków z rodzaju *Silene* na brak nawadniania opierają się na regulacji homeostazy jonowej i osmotycznej komórek czy też na syntezie tak zwanych kompatybilnych substancji rozpuszczonych - osmolitów.



## WYSOKOŚĆ PŁONU I ZAWARTOŚĆ BARWNIKÓW ASYMLACYJNYCH W ROSZPONCE WARZYWNEJ DOŚWIETLANEJ ŚWIATŁEM LED

Michał Kruczek<sup>1\*</sup>, Olga Długosz-Grochowska<sup>2</sup>, Renata Wojciechowska<sup>2</sup>, Anna Habela<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii, Zakład Biochemii, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

2) Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Instytut Biologii Roślin i Biotechnologii, Zakład Botaniki i Fizjologii Roślin, Al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

email autora do korespondencji\*: [m.kruczek@ogr.ur.krakow.pl](mailto:m.kruczek@ogr.ur.krakow.pl)

Światło jest niezbędnym czynnikiem decydującym o prawidłowym wzroście i rozwoju roślin. W uprawach szklarniowych najczęściej stosowanym źródłem światła są wysokoprężne lampy sodowe (HPS). W ostatnich latach rośnie zainteresowanie wprowadzaniem do szklarniowych systemów produkcyjnych rozwiązań opartych na technologii SSL-LED (ang. *Solid State Lighting Light-Emitting Diodes*).

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu doświetlania uzupełniającego światłem LED na wysokość plonu i wybrane parametry biochemiczne istotne dla utrzymania wysokiej jakości biologicznej otrzymanego produktu. Dwie odmiany roszonek warzywnej (*Valerianella locusta* L. cv. Noordhollandse oraz Hollandischer) doświetlane były przez 45 dni lampą HPS (kontrola) oraz czterema kombinacjami światła LED o następującym składzie: (1) 100% czerwone, (2) 90% czerwone + 10% niebieskie, (3) 80% czerwone + 20% niebieskie, (4) 70% czerwone + 30% niebieskie (fotoperiod 16h dzień/8h noc, natężenie napromieniowania  $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Zawartość barwników fotosyntetycznych (chlorofili a i b, luteiny,  $\beta$ -karotenu, a także sumy karotenoidów i sumy ksantofili) oznaczono przy pomocy techniki HPLC. Poziom cukrów rozpuszczalnych zmierzono metodą spektrofotometryczną.

W przypadku obydwu testowanych odmian najlepsze efekty uzyskano pod lampami LED emitującymi światło 80% czerwone + 20% niebieskie. Rosnące pod nimi rośliny charakteryzowały się zarówno wyższym plonem, jak i większą zawartością karotenoidów i cukrów rozpuszczalnych w porównaniu do roślin kontrolnych.

Badania zostały sfinansowane z dotacji przyznanej przez MNiSW na działalność statutową (DS3500).

**CHARAKTERYSTYKA ELEKTROCHEMICZNA SZTUCZNEGO BIAŁKA HP49**

Magdalena Łazicka<sup>1\*</sup>, Marta Pędziwiatr<sup>2</sup>, Joanna Grzyb<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Regulacji Metabolizmu,  
ul. Ilji Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

2) Instytut Fizyki Polskiej Akademii Nauk, Al. Lotników 32/46, 02-668 Warszawa

*email autora do korespondencji\**: lazicka@biol.uw.edu.pl

Białko HP49 jest cząsteczką zaprojektowaną sztucznie jako tak zwana „makieta białkowa” mająca zdolność wiązania kofaktorów porfiryńowych. Pojedynczy łańcuch białkowy składa się z 4 amfipatycznych helis, tworzących wiązkę (four-helix bundle) [1]. Wykorzystywane przez nas kofaktory opierają swoją różnią się atomem centralnym (żelazo, miedź, cynk lub brak atomu centralnego). Wiązanie kofaktorów jest możliwe dzięki obecności czterech reszt histydynowych, tworzących dwa dihistydynowe miejsca na obu krańcach cząsteczki HP49. Tym samym HP49 ma możliwość wiązania maksymalnie dwóch cząsteczek kofaktora, w tym układu mieszanego. Porfiryny umożliwiają transfer elektronów, a przez to możliwe jest scharakteryzowanie takiego układu przy pomocy metod elektrochemicznych. W przedstawionych badaniach wykorzystaliśmy chronoamperometrię, voltamperometrię cykliczną (CV) oraz pulsowo-różnicową (DPV). Pomiary były przeprowadzone przy użyciu układu trójelektrodowego: elektrody pracującej (WE), elektrody pomocniczej (CE) oraz elektrody referencyjnej (RE). Elektrode pracującą stanowiło złoto ale również materiały węglowe. Powierzchnie elektrod pracujących zostały odpowiednio zmodyfikowane dla uzyskania wiązania białek. Wykorzystano prostą elektrodopozycję, oraz wiązanie kowalencyjne i wiązanie za pomocą NTA (Nα,Nα-Bis(carboxymethyl)-L-lysine hydrate) [2]. Pomiary pozwoliły wyznaczyć potencjał redoks oraz różnice pomiędzy badanymi porfirynami. Wyniki pokazują, że badany system może być wykorzystany do produkcji biocenzników.

*Projekt został sfinansowany z grantu DEC-2013/09/B/NZ1/01111 Narodowe Centrum Nauki.*

[1] Koder R.L., Valentine K.G., Cerda J., Noy D., Smith K.M., Wand A.J., Dutton P.L. 2006. Native-like structure in designed four alpha-helix bundles driven by buried polar interactions. *J Am Chem Soc.* Nov 15;128(45):14450-1.

[2] Trammell S.A., Wang L., Zullo J.M., Shashidhar R., Lebedev N. 2004. Orientated binding of photosynthetic reaction centers on gold using Ni-NTA self-assembled monolayers. *Biosensors and Bioelectronics* 19, 1649–1655.

**OPTIMALIZACJA PARAMETRÓW ELEKTROFUZJI PROTOPLASTÓW *DAUCUS******CAROTA* SUBSP. *SATIVUS* I *DAUCUS CAROTA* SUBSP. *GADACEI***

Katarzyna Maćkowska<sup>\*</sup>, Ewa Grzebelus

Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Instytut Biologii Roślin  
i Biotechnologii, al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [kmackowska@gmail.com](mailto:kmackowska@gmail.com)

Elektrofuzja jest jedną z technik pozwalających na transfer pożądanych cech pomiędzy niespokrewnionymi gatunkami. Technika ta pozwala na uzyskanie wysokiej frekwencji zdarzeń fuzji protoplastów, stosunkowo dużą przeżywalność i funkcjonalność komórek. Odróżnienie homokariocytów, heterokariocytów oraz komórek, które nie uległy fuzji pozostających mieszaninie pofuzyjnej jest trudne w przypadku łączenia komórek o podobnej morfologii. Dlatego, wprowadzenie do komórek markerów fluorescencyjnych tj. izotiocyanianu rodaminu B i dioctanu fluoresceiny pozwala na skuteczne różnicowanie komórki ich selekcję.

Celem badań było opracowanie techniki różnicowego barwienia protoplastów *D. c. subsp. sativus* i *D. c. subsp. gadacei* oraz określenie wydajności elektrofuzji, a także efektu działania parametrów prądu stałego na jakość protoplastów w mieszaninie pofuzyjnej.

Protoplasty izolowano z kultur pędowych *D. c. subsp. sativus* i *D. c. subsp. gadacei*, następnie barwiono izotiocyanianem rodaminu B lub dioctanem fluoresceiny o różnych stężeniach i zawieszano w roztworze mannitolu (0,4 M). Frekwencję fuzji protoplastów po zastosowaniu prądu stałego w zakresie 2,5 - 3,5 kV/cm oceniano w mikrokomorze pod kontrolą mikroskopu fluorescencyjnego. Niewybarwione protoplasty poddano elektrofuzji w makrokomorze stosując w/w parametry, a następnie prowadzono kulturę protoplastów po elektrofuzji. W kulturze protoplastów oceniono żywotność, zdolność do re-syntezy ściany komórek oraz aktywność podziałową w 10 - dniowej hodowli.

Różnicujące wybarwienie protoplastów *D. c. subsp. sativus* i *D. c. subsp. gadacei* uzyskano po zastosowaniu izotiocyanianu rodaminu w stężeniu 2,5 µg/ml oraz dioctanu fluoresceiny w stężeniu 75 µg/ml. Najwięcej zdarzeń fuzji protoplastów *D. carota* subsp. *sativus* oraz *D. carota* subsp. *gadacei* obserwowano po zastosowaniu 3 impulsów prądu stałego o czasie trwania 40 µs i napięciu 3,0 kV/cm. Wzrost wartości napięcia prądu stałego w czasie fuzji powodował obniżenie żywotności protoplastów oraz ich zdolności do re-syntezy ściany komórkowej, a także ich aktywności podziałowej.

Wyniki badań zrealizowane w ramach tematu „Otrzymywanie mieszańców somatycznych z rodzaju *Daucus*” zostały sfinansowane z dotacji celowej na naukę przyznanej przez MNiSW (BM 4579).

## BIAŁKA UCZESTNICZĄCE W NABYWANIU TOLERANCJI NA MRÓZ U JĘCZMIENIA OZIMEGO (*HORDEUM VULGARE* L.)

Sabina Malaga<sup>1\*</sup>, Iwona Żur<sup>1</sup>, Monika Krzewska<sup>1</sup>, Ewa Dubas<sup>1</sup>, Anna Nowicka<sup>1</sup>, Gabriela Gołębiowska-Pikania<sup>2</sup>, Przemysław Kopeć<sup>3</sup>

1) Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Niezapominajek 21, 30-239, Kraków

2) Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie,  
ul. Podchorążych 21 30-084 Kraków

3) Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Al. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków

email autora do korespondencji\*: malaga.sabina@gmail.com

Jęczmień ozimy (*Hordeum vulgare* L.) jest gatunkiem zboża o wysokim potencjale plonotwórczym, dającym plon ziarna o dużej wartości paszowej oraz użytkowej. Wysoka wydajność tego zboża jest jednak istotnie obniżana przez niską zimotrwałość tego gatunku, wynikającą w głównej mierze z niskiej odporności na temperatury mrozowe. Identyfikacja czynników determinujących tolerancję na mróz, połączona z selekcją odpowiednich materiałów hodowlanych pozwoli na ograniczenie strat i rozszerzenie areału uprawy tego gatunku. Odporność roślin na niskie temperatury ma charakter zarówno adaptacyjny, jak i aklimatyzacyjny, a jej nabywanie jest procesem kilkuetapowym wymagającym okresu tzw. hartowania. Jedną z ważniejszych reakcji zachodzących w trakcie hartowania jest zmiana profilu ekspresji genów oraz ich produktów białkowych. Pod wpływem stresu tempo biosyntezy większości białek spada, uruchamiana jest natomiast produkcja tzw. białek stresowych, zapobiegających powstawaniu nieodwracalnych uszkodzeń. Celem przeprowadzonych badań była identyfikacja białek różnicujących linie DH jęczmienia ozimego (*Hordeum vulgare* L.), o zróżnicowanym poziomie odporności na mróz. Analizy proteomiczne przeprowadzono metodą elektroforezy dwuwymiarowej (2D-PAGE) na roślinach kontrolnych (siewki w fazie 3-liści) oraz po hartowaniu (3 tygodnie w 4/2°C (dzień/noc)).

Przeprowadzone analizy wykazały liczne zmiany ilościowe białek indukowanych w reakcji na proces hartowania. Linia o najwyższym poziomie odporności na mróz charakteryzowała się największą ilością białek o podwyższonym poziomie ekspresji. Porównanie linii o zróżnicowanym poziomie odporności na mróz wykazało duże zróżnicowanie białek zarówno pod względem jakościowym, jak i ilościowym.

*Prezentowane wyniki uzyskano w ramach badań podstawowych na rzecz postępu biologicznego w produkcji roślinnej (temat nr 26 wg Załącznika nr 8 Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 29 lipca 2015r. (Dz.U. poz. 1170).*

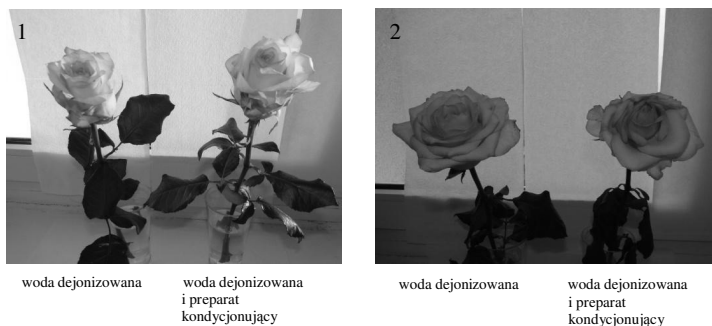
**ANALIZA SUBSTANCJI KONDYCJONUJĄCYCH KWIATY CIĘTE**

Ida Mazerant\*, Małgorzata Szczesio, Waldemar Maniukiewicz

*Politechnika Łódzka, ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji\* : ida.mazerant@p.lodz.pl*

Rozwijający się rynek kwiaciarski stawia coraz większe wymagania co do jakości i bogactwa kwiatów ciętych. Nic więc dziwnego, że opracowywane są coraz to nowsze środki kondycjonujące. Laboratoria badawcze firm produkujących odżywki kondycjonujące prześcigają się w ulepszeniu już istniejących preparatów, chcąc wydłużyć życie kwiatów ciętych, poprawić wygląd, zapach oraz wpłynąć spowalniająco na szybkość procesu więdnięcia. Skład odżywek pozostaje ścisłą tajemnicą producentów. Są to głównie substancje mające działanie bakterio- i grzybobójcze, poprawiające barwę pąków i intensywność zapachu, wpływające na ekspozycję i pełen rozwój kwiatu, a także zwiększające przyrost lodygi.



*Obserwacja zmian stanu kwiatów (nr 1 – świeże kwiaty, nr 2 – po okresie 7 dni)*

Podjęto próbę identyfikacji substancji w nich zawartych. Przeprowadzone badania dotyczyły dwóch aspektów, identyfikacji głównych składników odżywek i potwierdzenia skuteczności ich działania. Identyfikację oparto na pomiarach dyfraktometrycznych, a jakościową ocenę skuteczności działania na obserwacji wpływu wybranego preparatu kondycjonującego na szybkość więdnięcia róż. Metodą dyfraktometrii proszkowej analizowano dostępne na rynku polskim preparaty kondycjonujące.

**ROLA ZWIĄZKÓW FENOLOWYCH, LIGNIN I KALOZY W OCHRONIE ROŚLIN  
OGÓRKA (*CUCUMIS SATIVUS* L.) PRZED MĄCZNIAKIEM RZEKOMYM  
DYNIOWATYCH (*PSEUDOPERONOSPORA CUBENSIS*) INDUKOWANEJ  
PRZEZ *TRICHODERMA ATROVITIDE* 25**

Justyna Nawrocka<sup>1\*</sup>, Monika Skwarek<sup>1</sup>, Magdalena Szczech<sup>2</sup>, Urszula Małolepsza<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

2) Instytut Ogrodnictwa w Skierniewicach, ul. Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

email autora do korespondencji\*: jnawrocka@biol.uni.lodz.pl

Grzyby *Trichoderma* znane są jako mikroorganizmy wspomagające wzrost i zdrowotność roślin. Zdolność *Trichoderma* do indukowania naturalnych mechanizmów obronnych i odporności roślin na choroby wywoływane przez fitopatogeny stanowi obiekt wielu badań. Biochemiczne podłoże odporności indukowanej w roślinach przez te grzyby jest zagadnieniem ciągle budzącym wiele kontrowersji.

Celem prezentowanych badań była analiza biochemicznych podstaw odporności indukowanej przez nowy polski szczep grzybów z rodzaju *Trichoderma*, *T. atroviride* 25 (T25) w roślinach ogórka (*Cucumis sativus* L.) na chorobę mączniaka rzekomego dyniowatych (MRD) wywołowaną przez patogen *Pseudoperonospora cubensis*.

Obecność *T. atroviride* 25 w podłożu do uprawy ogórka w warunkach polowych korzystnie wpływała na wzrost, rozwój i plonowanie roślin ograniczając jednocześnie objawy MRD na pędach ogórka. W roślinach, u których rozwój symptomów chorobowych był zahamowany, obserwowano systemiczne zmiany biochemicznych markerów reakcji obronnych i odporności. Analizy mikroskopowe i biochemiczne wykazały, że ochrona przed MRD mogła być związana ze wzmocnieniem barier mechanicznych poprzez odkładanie kalozy i lignin chroniących system waskularny oraz zewnętrzną powierzchnię pędów i korzeni roślin ogórka. Jednocześnie analiza związków fenolowych z wykorzystaniem HPLC wykazała kluczową rolę T25 w indukcji syntezy aktywnych związków z grupy salicylanów, kwasów cynamonowych oraz flawonoidów o wysokim potencjale do bezpośredniej i pośredniej ochrony roślin ogórka przed *P. cubensis*. Obserwowane zmiany mogą sugerować wielopoziomowy system odporności indukowany w roślinach ogórka przez badany szczep *Trichoderma* skutecznie chroniący je przed MRD.

**OTRZYMYWANIE PODWOJONYCH HAPLOIDÓW OWSA (*AVENA SATIVA* L.)****METODĄ KRZYŻOWANIA ODDALONEGO**

Angelika Noga<sup>1\*</sup>, Edyta Skrzypek<sup>1</sup>, Izabela Marcińska<sup>1</sup>, Ilona Czyczyło-Mysza<sup>1</sup>, Marzena

Warchol<sup>1</sup>, Kinga Dziurka<sup>1</sup>, Katarzyna Juzoń<sup>1</sup>, Zygmunt Nita<sup>2</sup>, Krystyna Werwińska<sup>2</sup>,

Tomasz Warzecha<sup>3</sup>, Agnieszka Sutkowska<sup>3</sup>

1) Instytut Fizjologii Roślin im. F. Górskiego Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Niezapominajek 21, 30-239 Kraków

2) Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o. o., Grupa IHAR, ul. Główna 20, 99-307 Strzelce

3) Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja, al. A. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków

email autora do korespondencji\*: [a.noga@ifr-pan.edu.pl](mailto:a.noga@ifr-pan.edu.pl)

Głównym celem hodowli roślin jest dostarczenie nowych odmian dostosowanych do potrzeb rynku przy jednoczesnym skróceniu czasu potrzebnego na ich wytworzenie. Jedną z metod pozwalających skrócić czas wytworzenia nowej odmiany nawet o 5 lat używanych jest krzyżowanie oddalone. Uzyskane w ten sposób rośliny charakteryzują się wysokim stopniem homozygotyczności. Metoda ta jest najbardziej efektywna w otrzymywaniu linii DH owsa.

Materiał roślinny w przeprowadzonych badaniach stanowiło 21 genotypów owsa (pokolenie F<sub>1</sub>), otrzymanych z Hodowli Roślin Strzelce Sp. z o. o.. Po przeprowadzeniu krzyżowania oddalonego owsa z kukurydzą uzyskano haploidalne zarodki, kielkowano na pożywkach regeneracyjnych. Otrzymane zarodki podzielono na 4 klasy wielkości: zarodki <0,5 mm, 0,5 – 1,0 mm, 1,0 – 1,5 mm oraz ≥1,5 mm. Oceniono ich zdolność kiełkowania oraz efektywność otrzymywania linii DH.

Wykastrowano 17 904 kwiatki, z których uzyskano 700 haploidalnych zarodków. Około 46% z nich miała wielkość od 1,0 – 1,5 mm, natomiast najmniejszą grupę stanowiły zarodki <0,5 mm. Najmniejsze zarodki miały kształt kulisty, natomiast większe podłużny, z dobrze wykształconą osią zarodka oraz wyraźnie zarysowanym stożkiem wzrostu pędu i korzenia. Z wszystkich wyizolowanych zarodków 133 wykiełkowało. Zarodki <0,5 mm nie kiełkowały, a zarodki ≥ 1,5 mm kiełkowały najlepiej. Przeprowadzona analiza wariancji wykazała, że zdolność do kiełkowania zarodków zależała od genotypu i ich wielkości. Z zarodków tych otrzymano 59 haploidalnych roślin, z których po podwojeniu liczby chromosomów uzyskano 50 linii DH.

*Badania finansowane przez NCBiR, PBS3/B8/17/2015.*

**WPLYW SUSZY NA AKUMULACJĘ METABOLITÓW PIERWOTNYCH U DWÓCH  
FORM INTROGRESYWNYCH *LOLIUM MULTIFLORUM*/*FESTUCA ARUNDINACEA*  
O ODMIENNYM POZIOMIE TOLERANCJI TEGO STRESU**

Dawid Perlikowski<sup>1\*</sup>, Mariusz Czyżniewski<sup>1</sup>, Łukasz Marczak<sup>2</sup>, Arkadiusz Kosmała<sup>1</sup>

1) Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, ul. Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

2) Instytut Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, ul. Noskowskiego 14/14, 61-704 Poznań

email autora do korespondencji\*: [dper@igr.poznan.pl](mailto:dper@igr.poznan.pl)

Produktywność roślin zależy w dużej mierze od efektywności procesu fotosyntezy, który jest jednym z najbardziej wrażliwych na działanie warunków suszy procesów fizjologicznych. Ponadto, wszelkie zmiany w metabolizmie węgla w reakcji rośliny na suszę są również silnie związane z aktywacją syntezy pewnych ważnych osmotycznie czynnych metabolitów, funkcjonujących jako zmiatacze wolnych rodników czy stabilizatory struktur błonowych i białek. Nasze ostatnie badania prowadzone na dwóch formach introgresywnych *Lolium multiflorum*/*Festuca arundinacea*, o odmiennym poziomie tolerancji deficytu wodnego pokazały, że genotyp 7/6, cechujący się niższym poziomem tolerancji 14-tygodniowej suszy polowej, charakteryzował się jednocześnie intensywniejszą fotosyntezą w warunkach 11-dniowej suszy laboratoryjnej w doniczkach, która nie była limitowana stopniem otwarcia aparatów szparkowych oraz wyższą akumulacją i aktywnością chloroplastowej aldolazy. Natomiast genotyp 4/10 o wyższym stopniu tolerancji suszy, charakteryzował się lepszą zdolnością do regeneracji błon po nawodnieniu. Zakładamy, że genotyp 7/6 będzie wykazywać również podwyższoną akumulację metabolitów pierwotnych, natomiast genotyp 4/10 o wydajniejszej regeneracji błon będzie się charakteryzował akumulacją związków kluczowych dla tego procesu. Wyniki analizy akumulacji 66 wybranych metabolitów pierwotnych u dwóch badanych form introgresywnych pokazały, zgodnie z naszą hipotezą, wyższy poziom akumulacji większości analizowanych metabolitów pierwotnych u genotypu 7/6, zarówno w warunkach kontrolnych, jak i w suszy, co może mieć związek z wyższą wydajnością fotosyntezy u tego genotypu. U genotypu 4/10 z kolei zidentyfikowano podwyższoną akumulację kilku kluczowych związków, takich jak prolina, czy *mio*-inozytol, biorących udział w mechanizmie osmoprotekcyjnym i mogących mieć związek z szybszą regeneracją oraz istotnie wyższym poziomem akumulacji metabolitów po ustąpieniu warunków stresu u tego genotypu.



**WPLYW ZMIANY POTENCJAŁU REDOKS NA FLUORESCENCJE BARWNIKÓW  
W KOMPLEKSACH ANTENOWYCH FOTOSYSTEMU II (LHCII)  
NA POWIERZCHNI ELEKTROD WĘGLOWYCH**

Paulina Piotrowska<sup>1,2</sup>, Magdalena Maj-Żurawska<sup>2</sup>, Maciej Garstka<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Regulacji Metabolizmu,  
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

2) Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii, Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej,  
Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa

email autora do korespondencji\*: [p.piotrowska@biol.uw.edu.pl](mailto:p.piotrowska@biol.uw.edu.pl)

Izolowane kompleksy antenowe fotosystemu II (Light Harvesting Complex –LHC II) są zdolne do przenoszenia wzbudzenia fotochemicznego w czasie oświetlania i przekazania energii wzbudzenia do półprzewodnika<sup>[1]</sup> jakim jest elektroda węglowa. Imobilizowane po przez proces adsorpcji i sieciowane w matrycy z glutaraldehydem wykazują właściwości stabilnej fotoczułej warstwy zdolnej do konwersji energii świetlnej<sup>[2]</sup>.

Charakterystykę prądowo-napięciową bioelektrody zbadano wykorzystując techniki elektrochemiczne w warunkach światła i ciemności. Stwierdzono związek intensywności fotoprądu w zależności od przyłożonego potencjału redoks stosując technikę chronoamperometrii (CA). Określono także w jaki sposób przyłożony do warstwy kompleksów antenowych potencjał redoks wpływa na organizację warstwy w bezpośrednim sąsiedztwie powierzchni elektrody. Zmiany te zbadano stosując niskotemperaturową fluorescencję chlorofilu (77K) oraz fluorescencję w warunkach temperatury pokojowej zmierzoną przy zastosowaniu fluorescencyjnego mikroskopu konfokalnego (CLSM).

Konstrukcja tego układu umożliwia badanie oddziaływań elektrochemicznych w złożonych układach hybrydowych.

*Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ1/01111.*

<sup>[1]</sup> Morio Nagata, Yutaka Amao, Hideki Hashimoto and Mamoru Nango; Immobilization and Photocurrent Activity of a Light-Harvesting, Antenna Complex II, LHCII, Isolated from a Plant on Electrodes; ACS Macro Letters (2012) 1, 296–299

<sup>[2]</sup> Pinalysa Cosma, Francesco Longobardi, Angela Agostiano; Electrochemical characterization of species involved in photosynthesis: from proteins to model systems Journal of Electroanalytical Chemistry 564 (2004) 35–43.

**WYKORZYSTANIE CYTOKININ W INHIBICJI PROCESU STARZENIA LIŚCI*****HORDEUM VULGARE* ODMIAN CARINA I LOMERIT**

Ernest Skowron<sup>1\*</sup>, Ewa Niewiadomska<sup>2</sup>

1) Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Instytut Biologii, ul. Świętokrzyska 15A, 25-406 Kielce

2) Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego Polskiej Akademii Nauk,  
ul. Niezapominajek 21, 30-239 Kraków

email autora do korespondencji\*: skowron.ernest@gmail.com

Cytokiny stanowią grupę hormonów zaangażowanych w regulację wzrostu i rozwoju roślin, w tym m.in. rozwoju liści, otwierania aparatów szparkowych czy biogenezy chloroplastów. Z ekonomicznego punktu widzenia, kluczową wydaje się być jednak rola cytokinin w inhibicji i potencjalnej zdolności do odwrócenia procesu starzenia organów roślinnych. W przypadku zbóż szczególne znaczenie ma szybkość starzenia liścia flagowego, pozostająca w korelacji z wielkością uzyskiwanego plonu. Przedwczesna inicjacja starzenia skutkuje jego obniżeniem i może być następstwem stresu fizjologicznego, np. niedoboru wody, bądź zmian w dostępności światła. To ostatnie zjawisko znalazło zastosowanie w metodzie DIS (ang. *dark-induced senescence*), pozwalającej w kontrolowany sposób indukować starzenie liści przez ich zaciemnianie.

W badaniu analizowano dwie odmiany jęczmienia: Carina i Lomerit, różniące się tempem starzenia liścia flagowego i uzyskiwanym plonem. Ze względu na zróżnicowanie w budowie chemicznej i specyfikę działania, zdecydowano się wykorzystać trzy cytokiny: kinetynę, benzyloadeninę i *trans*-zeatynę (*tZ*) w stężeniach 0,5-50  $\mu$ M. Fragmenty liści jęczmienia inkubowano (72 h) w dwóch grupach: DIS i kontroli z normalnym reżimem światła (16/8 h dzień/noc), po czym traktowano je właściwym stężeniem fitohormonu. W celu określenia roli endogennych cytokinin w hamowaniu starzenia liści wykorzystano potencjalny inhibitor ich szlaku sygnałnego związanego z fosfolipazą D (PLD): butan-1-ol (0,2% i 1% v/v). Po 48 h oceniano postęp starzenia mierząc utratę chlorofilu oraz zmiany w funkcjonowaniu fotoukładu PSII i PSI (metodą Dual-Pam). Pozwoliło to na wytypowanie cytokiny zdolnej do najefektywniejszej supresji i odwrócenia następstw procesu starzenia oraz określenia potencjalnej roli inhibitora PLD w szlaku sygnałnym endogennych cytokinin.

*Badania wykonane i sfinansowane w ramach realizacji projektu NCN: UMO-2014/15/N/NZ9/01378.*

## CHARAKTERYSTYKA RÓŻNIC W STRUKTURZE CHLOROPLASTÓW – PORÓWNANIE WYBRANYCH MUTANTÓW I ODPWIEDNIICH EKOTYPÓW

### *ARABIDOPSIS THALIANA*

Joanna Skupień<sup>1\*</sup>, Lucja Kowalewska<sup>1</sup>, Radosław Mazur<sup>2</sup>, Agnieszka Mostowska<sup>1</sup>

1) Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin,  
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

2) Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Zakład Regulacji Metabolizmu,  
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa

email autora do korespondencji\*: j.skupien@biol.uw.edu.pl

Tematem naszych badań jest znalezienie różnic strukturalnych pomiędzy chloroplastami mutantów *Arabidopsis thaliana* z zaburzonymi szlakami biosyntezy lipidów, które są istotne dla formowania i utrzymywania struktur błonowych plastydów, w porównaniu ze strukturą chloroplastów odpowiadających im ekotypów.

Celem pracy jest wskazanie miejsc zaburzeń błon tylakoidowych, które pokażą rolę wybranych glikoglicerolipidów w powstawaniu błon tylakoidów. Wiadomo z literatury, że glikoglicerolipidy są kluczowym lipidowym składnikiem błon wewnętrznych plastydów zarówno w ciemności, jak i na świetle: monogalaktozyloacyloglicerol (MGDG) stanowi ok. 50% wszystkich lipidów błon, a digalaktozyloacyloglicerol (DGDG) – ok. 30%<sup>[2]</sup>. Istotne jest więc wyjaśnienie ich roli w przekształceniach strukturalnych błon chloroplastowych. Wiadomo, że mutant *mgd1* akumuluje o 40% mniej MGDG niż *wt* i może maksymalnie wykorzystać światło do wzmożenia syntezy chlorofilu i wydajnej transformacji etioplastu w chloroplast <sup>[1]</sup>. Znacznie mniej wiadomo o mutancie *dgd1*, wiadomo jednak, że mutant *dgd1* ma znaczny stopień zakłócenia syntezy DGDG. Przestrzenna rekonstrukcja (3D) na poziomie komórkowym, która została odtworzona w mikroskopie konfokalnym, umożliwiła wizualizację zaburzeń w dystrybucji, liczebności i ogólnej strukturze chloroplastów spowodowanych badanymi mutacjami. Różnice strukturalne zostały powiązane z poziomem białek fotosyntetycznych i kompleksów chlorofilowo-białkowych oraz kluczowych białek antenowych i rdzeniowych fotosystemów w dojrzałych chloroplastach mutantów i ekotypów *Col* i *Col2*, będących ich konstruktami. Rekonstrukcja przestrzennych modeli chloroplastów w pełni rozwiniętych liściach obu mutantów i typu dzikiego będzie kluczowa dla odnalezienia miejsc zaburzeń.

Badania sfinansowane z grantu OPUS 2014/13/B/NZ3/00413 i DSM 140000/501/86/110138.

<sup>[1]</sup> Aronsson H., Plant Signal. Behav, 12 (2008) 1093-1095.

<sup>[2]</sup> Kobayashi K. et al. Plant J., 73 (2013) 250–261.

## UDZIAŁ LIGNINY W ODPOWIEDZI LIŚCI DĘBU SZYPUŁKOWEGO NA INFEKCJĘ *MICROSPHAERA ALPHITOIDES*

Monika Skwarek\*, Justyna Nawrocka, Jacek Patykowski

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji\*: mskwarek@biol.uni.lodz.pl

Dąb szypułkowy (*Quercus robur* L.) jest dominującym gatunkiem drzewa w regionie europejskim. Najczęściej obserwowaną chorobą dębów jest mączniak prawdziwy, wywołany przez gatunek grzyba *Microsphaera alphitoides*, należący do obligatoryjnych grzybów biotroficzných.

Poinfekcyjną akumulację ligniny w wyniku porażania patogenem grzybowym stwierdzono u wielu roślin, co potwierdza dużą uniwersalność mechanizmu obronnego opartego na lignifikacji ścian komórkowych. Proces lignifikacji stanowi zatem pierwszą linię obrony liści dębu zainfekowanych mączniakiem. Z kolei peroksydazy roślinne odgrywają ważną rolę w tworzeniu lignin.

Do eksperymentu wykorzystano jednoroczne sadzonki dębu szypułkowego, pozyskane ze szkółki kontenerowej Nadleśnictwa Gidle. Celem pracy było określenie zawartości lignin w liściach dębu, a także oznaczenie aktywności peroksydazy.

Wyniki wykazały wzrost stężenia ligniny w zainfekowanych liściach dębu, co zostało potwierdzone za pomocą techniki mikroskopii konfokalnej. Zaobserwowano także wzrost aktywności peroksydazy (GPOD) w zainfekowanych liściach dębu. Uzyskane wyniki wskazują zmiany zawartości ligniny oraz aktywności GPOD, które mogą być związane z reakcjami obronnymi liści dębu na infekcję *Microsphaera alphitoides*.

**ANTYOKSYDANTY ENZYMATYCZNE I ANTYOKSYDANTY NIEENZYMATYCZNE  
W EKSTRAKTACH PIEPRZYCY SIEWNEJ *LEPIDIUM SATIVUM* L. PODDANEJ  
STRESOWI ABIOTYCZNEMU**

Agnieszka Szczodrowska\*, Kamila Kulbat, Beata Smolińska, Joanna Leszczyńska

*Politechnika Łódzka, Instytut Podstaw Chemii Żywności, ul. B. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź*

*email autora do korespondencji\*: agnieszkaszczodrowska@o2.pl*

Wiadomym faktem jest, że stres biotyczny i abiotyczny powoduje stres oksydacyjny w różnym stopniu. Zdolność roślin do kontrolowania poziomu oksydantów jest wysoko skorelowana z przystosowaniem do warunków stresu.

Zarówno czynniki biotyczne, jak i abiotyczne powodują stres oksydacyjny, który negatywnie wpływa na całą roślinę, a także produkcję metabolitów wtórnych. Roślina narażona na czynniki zewnętrzne może produkować nawet nowe metabolity, które dotychczas nie zostały zidentyfikowane. Również mogą być produkowane substancje, które są niekorzystne dla zdrowia człowieka.

W literaturze także można znaleźć informacje, iż produkcja reaktywnych form tlenu oraz stres oksydacyjny są zwyczajnie w roślinach narażonych na czynniki stresujące w środowisku.

W pracy zostały określone zmiany w systemie antyoksydacyjnym rośliny *Lepidium sativum* L. pod wpływem stresu abiotycznego wywołanego jonami metali (cynk, nikiel, kobalt, miedź, mangan), szczególnie skupiono się na oznaczeniu aktywności antyoksydantów enzymatycznych oraz antyoksydantów nieenzymatycznych.

W miarę wzrostu stężenia jonów metali zauważono wzrost wszystkich oznaczanych związków biologicznie czynnych (polifenole, flawonoidy, witamina C, glutation). Ponadto aktywność poszczególnych enzymów różniła się: stwierdzono spadek aktywności katalazy oraz wzrost aktywności peroksydazy gwajakolowej.

**WPLYW ŻYWIENIA AMONOWEGO NA METABOLIZM METYLOGLIOKSALU  
U RZODKIEWNIKA (*ARABIDOPSIS THALIANA*)**

Klaudia Szwał<sup>\*</sup>, Monika Ostaszewska-Bugajska, Bożena Szal

*Uniwersytet Warszawski, Zakład Anatomii i Cytologii Roślin, ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*email autora do korespondencji*<sup>\*</sup>: [k.szwaj@biol.uw.edu.pl](mailto:k.szwaj@biol.uw.edu.pl)

Jony amonowe działają toksycznie na rośliny jeżeli występują jako jedyne źródło azotu w podłożu, jest to tzw. syndrom amonowy. Zakładamy, że przyczyną występowania syndromu amonowego może być wzrost produkcji metyloglioksalu (MG). MG jest cytotoksycznym związkiem powodującym uszkodzenia różnych biomolekuł (m.in. DNA i białek) zdolnym do inaktywacji enzymatycznych systemów antyoksydacyjnych komórek. MG produkowany jest podczas metabolizmu fosfotrioz, głównie w procesie glikolizy, natomiast katabolizowany jest dzięki aktywności glioksalaz (GLXI i GLX II). Celem projektu była analiza metabolizmu MG u rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*, ekotypu Col-0) podczas żywienia amonowego. Wykazaliśmy, że żywienie amonowe powoduje zmiany aktywności enzymów glikolitycznych, co może sprzyjać wytwarzaniu MG. Ponadto aktywności glioksalaz oraz poziom transkryptu genu kodującego jedną z izoform GLXI jest wyższy u roślin hodowanych na  $\text{NH}_4^+$ . Wyniki naszych badań potwierdzają, że wzrost stężenia cytotoksycznych związków związanych z metabolizmem MG może powodować zaburzenie rozwojowe u roślin hodowanych w warunkach żywienia amonowego.

*Badania finansowane z projektu nr 2014/14/E/NZ3/00155.*

**WPLYW ELICYTACJI NA AKTYWNOŚĆ PEROKSYDAZY I DYSMUTAZY  
PONADTLENKOWEJ W ODPOWIEDZI FASOLI NA INFEKCJĘ *PSEUDOMONAS  
SYRINGAE* PV. *PHASEOLICOLA***

Mateusz Wala<sup>\*</sup>, Jacek Patykowski

Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: walamats@gmail.com

Choroby infekcyjne są czynnikiem środowiskowym zaburzającym procesy wzrostu i rozwoju roślin. Bakterie patogenne wykorzystują możliwość destabilizacji homeostazy komórek żywiciela poprzez produkcję toksyn i białek interferujących ze szlakami sygnalizacji. Prowadzi to do nieadekwatnej odpowiedzi obronnej ze strony rośliny. Jednym ze sposobów wzbudzenia odporności adekwatnej względem spodziewanej infekcji jest elicytacja. Skutkiem fizjologicznym tego zabiegu jest m. in. zmiana aktywności aparatu antyoksydacyjnego, oraz zmiany jakościowe w profilu ekspresji białek, w tym enzymów. Do tej pory w literaturze opisano wiele przypadków skutecznego wykorzystania elicytorów będących analogami kwasu salicylowego (SA). Celem niniejszych badań było sprawdzenie wpływu syntetycznego analogu SA, benzotiadiazolu (BTH), na dynamikę zmian aktywności oraz profil izoform peroksydazy (POX) i dysmutazy ponadtlenukowej (SOD) w trakcie obwódkowej bakteriozy fasoli wywoływanej przez *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. W eksperymencie wykorzystano dwie odmiany fasoli zwyczajnej: podatną (Złota Saxa) i niepodatną (Korona). Pomiary aktywności enzymatycznej wykonano w 1, 3, 5, 7, 9, 12 i 14 dniu od momentu traktowania roślin zadanyim czynnikiem. Natywny rozdział elektroforetyczny przeprowadzono siedem dni po inokulacji i/lub elicytacji. Uzyskane wyniki wskazują, że BTH ma wpływ na aktywność SOD w liściach odmiany niepodatnej, jednak nie było to związane ze zmianami jakościowymi izoform. Infekcja powodowała istotny wzrost aktywności POX jedynie w przypadku odmiany niepodatnej. U obu odmian rozwój choroby skorelowany był z pojawieniem się dodatkowej izoformy POX. Wyniki sugerują, że zwiększenie aktywności peroksydazy jest jednym z kluczowych czynników odpowiedzialnych za brak podatności na obwódkową bakteriozę fasoli.

**TLENEK AZOTU<sup>II</sup> JEST ZAANGAŻOWANY W FORMOWANIE W LIŚCIACH  
TYTONIU OBSZARÓW NEKROTYCZNYCH ZALEŻNYCH OD WYSOKIEGO  
STĘŻENIA ZN W POŻYWCIE**

Aleksandra Weremczuk<sup>\*</sup>, Danuta Maria Antosiewicz

*Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: [aleksandra.weremczuk@student.uw.edu.pl](mailto:aleksandra.weremczuk@student.uw.edu.pl)*

Ostatnie wyniki badań wskazują, że w roślinach tytoniu poddanych ekspozycji na wysokie stężenie Zn w pożywce, dochodzi do formowania się obszarów pre-nekrotycznych/nekroz w obrębie komórek mezofilu liści. Obszary te charakteryzuje wyższa zawartość cynku, w porównaniu z sąsiadującymi niezmiennymi komórkami<sup>[1]</sup>. Jak dotychczas niewiele wiadomo na temat mechanizmów ich formowania się. W oparciu o własne badania i doniesienia Xu i wsp.<sup>[2]</sup> postawiono hipotezę o roli NO w powstawaniu w liściach tytoniu obszarów pre-nekrotycznych/ nekroz zależnych od wysokiego stężenia Zn w pożywce. Jej weryfikacja był celem niniejszej pracy.

Rośliny rosły na pożywce płynnej, do której na ostatnich etapach wzrostu dodawano 200  $\mu$ M Zn. Rozwój obszarów pre-nekrotycznych/ nekroz monitorowano w obecności lub przy braku inhibitora NO L-NAME (l- $N^G$ -nitroarginine methyl ester) w pożywce. Na przekrojach poprzecznych przez liście badano wzór lokalizacji Zn i NO za pomocą barwników fluorescencyjnych<sup>[1,3]</sup>.

Obecność inhibitora NO w pożywce spowodowała opóźnienie formowania się obszarów pre-nekrotycznych/nekroz. Wzór lokalizacji Zn i NO na przekrojach poprzecznych liści był podobny. Wyniki sugerują, że NO może odgrywać rolę w procesach formowania się obszarów pre-nekrotycznych/nekroz w liściach tytoniu rosnących w obecności wysokiego stężenia Zn.

<sup>[1]</sup> Siemianowski O, Barabasz A., Weremczuk A., Rusczyńska A., Bulska E., Williams L.E., Antosiewicz D.M, *Plant, Cell and Environmental*, no. 36, pp. 1093-1104, 2013.

<sup>[2]</sup> Xu J., Yin H., Li Y., Liu X., *Plant Physiology*, no. 154, pp. 1319-1334, 2010.

<sup>[3]</sup> Besson-Bard A., Gravot A., Richaud P., Auroy P., Duc C., Gaymard F., Taconnat L., Renou J.-P., Pugin A., Wendehenne D., *Plant Physiology*, vol. 149, no. 3, pp. 1302-1315, 2009.



**STARZENIE KORZENI CHŁONNYCH ROŚLIN DRZEWIASTYCH**

Natalia Wojciechowska\*, Maria K. Drymer, Agnieszka Bagniewska-Zadworna

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej,  
Zakład Botaniki Ogólnej, ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

email autora do korespondencji\*: natalia.wojciechowska@amu.edu.pl

Rośliny drzewiaste cechuje występowanie zjawiska heteroryzji. Polega ono na wykształcaniu odmiennych typów korzeni I rzędu w obrębie tego samego systemu korzeniowego. W ramach tego zróżnicowania wyróżnia się: drobne, krótkie i cienkie korzenie chłonne - zwiększające powierzchnię absorpcyjną oraz długie, grubsze i szybko rosnące korzenie pionierskie – pełniące głównie funkcje strukturalne. Korzenie chłonne, podobnie jak liście, zalicza się do organów efemerycznych, które po spełnieniu swoich funkcji starzeją się i zamierają.

Celem badań było sprawdzenie czy długość życia drzew, sezonowe zrzucanie liści oraz wymagania glebowe wpływają na żywotność korzeni chłonnych. Badania zostały przeprowadzone w oparciu o system woreczków ryzotrowych, co umożliwiło analizy systemów korzeniowych w warunkach naturalnych. Przeprowadzono również obserwacje mikroskopowe, w celu sprawdzenia jakie zmiany anatomiczne występują podczas procesu starzenia w korzeniach chłonnych. Materiał badawczy stanowiły cztery gatunki drzew, przedstawiciele okrytozalążkowych, tj.: *Betula pendula* i *Populus deltoides* oraz nagozalążkowych tj.: *Picea abies* czy *Pinus sylvestris*.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że starzenie korzeni chłonnych jest zsynchronizowane czasowo jedynie u trzech spośród badanych gatunków (*Picea abies*, *Betula pendula*, *Pinus sylvestris*). W przypadku *Populus deltoides*, gatunku cechującego się najszybszym wzrostem i jednocześnie najkrótszym czasem życia, proces starzenia rozpoczął się wcześniej i obejmował znaczną część całego systemu korzeniowego. U wszystkich badanych gatunków obserwowano podobne zmiany w budowie anatomicznej. Jedną z najczęściej występujących była stopniowa degradacja komórek miększu kory pierwotnej.

Ponieważ w lasach korzenie chłonne są istotną składową biomasy gleby, tempo ich życia warto jest rozważyć w perspektywie obiegu pierwiastków. Ze względu jednak na trudności w prowadzeniu tego rodzaju badań zagadnienie to w dalszym ciągu jest słabo poznane. Budowa anatomiczno-chemiczna obumierających korzeni badanych gatunków drzew w istotny sposób różnicuje tempo ponownego włączania węgla do obiegu pierwiastków i wpływa tym samym na zachowanie równowagi w przyrodzie.

**AKTYWNOŚĆ TRANSFERAZY GLUTATIONOWEJ, DEHYDROGENAZY  
MLECZANOWEJ ORAZ PEROKSYDACJA LIPIDÓW W ROŚLINACH OGÓRKA  
TRAKTOWANYCH BTH**

Małgorzata Żyźniewska<sup>\*</sup>, Maria Skłodowska

*Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin,  
ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź*

*email autora do korespondencji<sup>\*</sup>: m.zyzniewska@hotmail.com*

Z ekonomicznego punktu widzenia ogórek jest istotną rośliną w rolnictwie. W celu obrony roślin przed patogenami, używa się różnego rodzaju pestycydów. Zauważono jednak, że mają one negatywny wpływ na środowisko, a patogeny szybko uodparniają się na ich działanie. Uniemożliwia to skuteczną ochronę roślin, co skutkuje pogorszeniem jakości plonów. Nowoczesne metody ochrony roślin mają charakter prewencyjny, a ich zastosowanie prowadzi do wzrostu odporności. Środki używane do tego rodzaju ochrony roślin nazywane są elicytorami, a jednym z nich jest BTH. Działanie tego związku uznaje się za proekologiczne, ze względu na to, że nie wykazuje on bezpośredniego działania toksycznego, a jednocześnie rośliny nim traktowane stają się bardziej odporne na czynniki infekcyjne.

Celem badania było określenie aktywności transferazy glutationowej, dehydrogenazy mleczanowej oraz peroksydacji lipidów w roślinach poddawanych i niepoddawanych traktowaniu BTH.

W celu przeprowadzenia badań, 7-tygodniowe rośliny ogórka potraktowano roztworem BTH o stężeniu 0,04%. Materiał do badań stanowiły tkanki liści pochodzących z 3, 5 i 7 piętra liściowego, zebrane 4 i 6 dnia po elicytacji.

Badanie wykazało, że aktywność oznaczanych enzymów wzrosła po traktowaniu roślin BTH. W przypadku GST najwyższą aktywność stwierdzono w 3 liściu, zarówno 4 i 6 dnia. Istotny wzrost nadtlenu lipidowych stwierdzono 6 dnia w 3 liściu. W 7 liściu, 6 dnia, peroksydacja lipidów była o 20 % niższa niż w tkankach kontrolnych i 4 dnia w tych samych liściach stężenie to było o 17 % wyższe w stosunku do warunków kontrolnych. Badanie wykazało, że proces peroksydacji lipidów ulegał obniżeniu wraz z upływem czasu. W przypadku LDH najniższą jej aktywność wykazano w 5 liściu, 4 dnia, a 6 dnia najwyższa aktywność została stwierdzona w 7 piętrze liściowym (30% powyżej kontroli).



**INDEKS AUTORÓW****A**

Agier Justyna, 104, 123  
Andrzejczak Olga, 34  
Antczak Magdalena, 60  
Antczak Olga, 35

**B**

Bartos Maciej, 26  
Bazan Rafał, 61  
Bemowska-Kalabun Olga, 27  
Bialik Piotr, 105  
Bocian Karol, 146  
Bohdanowicz Małgorzata, 53  
Borówka Paulina, 62  
Brodowska Agnieszka, 106, 107  
Brodowska Katarzyna, 107, 106  
Bukowska Barbara, 63  
Burian Maria, 153

**C**

Caban Monika, 108  
Cichoń Natalia, 110  
Ciesielski Piotr, 64  
Cieślak Klaudia, 154  
Chięcza Klaudia, 36  
Chmielewska Magda, 54  
Chojniak Joanna, 109, 39  
Cyrkler Monika, 65  
Czernek Liliana, 111  
Czołpińska Magdalena, 112  
Czubak Kamila, 113  
Czubatka-Bieńkowska Anna, 66, 85

**D**

Dadura Karolina, 67  
Dąbrowska Justyna, 114  
Dąbrzalska Monika, 115  
Dec Karolina, 68, 79  
Denel-Bobrowska Marta, 69  
Długosz-Grochowska Olga, 155, 160  
Dobrowolski Mateusz, 97  
Drożdżyński Piotr, 37  
Durka Kamil, 70  
Dziadek Jarosław, 52

**F**

Fiszka-Borzyszkowska Agnieszka, 38  
Frąc Mateusz, 147

**G**

Gajek Gabriela, 116  
Gajek Kornelia, 98, 121  
Gerszon Joanna, 71  
Gierlich Piotr, 117, 136  
Gorzkiewicz Michał, 72  
Góralczyk Aleksandra, 118  
Grabarek Beniamin, 73, 59, 140

**H**

Hertel Joanna, 119  
Hryhorowicz Magdalena, 74

**I**

Izbicka Anna, 75

**J**

Jaceniak Damian, 76  
Jałowiecki Łukasz, 39, 109  
Jankowski Artur, 156  
Jarosiewicz Paweł, 40  
Jaskulska Aleksandra, 28

**K**

Kaczanowska Katarzyna, 157  
Kasińska Marta, 55  
Kasperczuk Anna, 77  
Kawka Malwina, 120  
Knysak Piotr, 41  
Kołodziejczyk Izabela, 158  
Kostrzewa Banita, 121, 98  
Kot Anna Maria, 122, 125, 133  
Kozak Katarzyna, 148  
Kozłowska Elżbieta, 123, 104  
Kozmińska Aleksandra, 159  
Krukowska Anna, 42  
Kruczek Michał, 160  
Kulbat Kamila, 149, 172  
Kulczyńska Klaudia, 78  
Kulczyński Bartosz, 124  
Kurcz Agnieszka, 125, 133, 122  
Kuźmińska-Surowaniec Agnieszka, 126

**L**

Leszczyńska Joanna, 144  
Lichota Anna, 127

**Ł**

Łaniewska-Trokenheim Łucja, 96  
Łazicka Magdalena, 161  
Łukomska Agnieszka, 79, 68

**M**

Machaj Gabriela, 80, 88  
Macieja Anna, 81, 85, 65  
Maćczak Aneta, 82  
Maćkowska Katarzyna, 162  
Majda Aneta, 29  
Makałowski Wojciech, 24  
Malaga Sabina, 163  
Mańko Diana, 43, 45  
Marcinkowska Monika, 128  
Matczak Justyna, 129  
Matusiak Dominik, 130  
Mazerant Ida, 164  
Molska Katarzyna, 99  
Mroczkowska Agnieszka, 30

**N**

Nawrocka Justyna, 165, 171  
Noga Angelika, 166  
Nowek Joanna, 44  
Nowicka Joanna, 131

**O**

Odrzygóźdź Cezary, 83  
Ograczyk Elżbieta, 132

**P**

Palusińska Małgorzata, 150  
Perlikowski Dawid, 167  
Pikus Ewa, 84, 90  
Pilny Ewelina, 100  
Piotrowska Paulina, 168  
Piwowarek Kamil, 133, 122, 125

**R**

Rajtor Monika, 31  
Roguz Katarzyna, 32  
Rozpędek Wioletta, 134  
Rudy Elżbieta, 151  
Rugowska Anna, 56  
Rymuszka Diana, 45, 43

**S**

Sarnik Joanna, 85, 66  
Sęda Aleksandra, 86  
Sieradzka Małgorzata, 135  
Sierpowska Lidia, 136, 117  
Sikora Bartosz, 87, 57  
Skowron Ernest, 169  
Skubis Aleksandra, 57, 87

Skupień Joanna, 170

Skwarek Monika, 171, 165  
Słodownik Patrycja, 33  
Sobczyk Robert, 46  
Srebrzyński Michał, 89  
Stelmach Katarzyna, 88, 80  
Szaniawska Magdalena, 47, 138  
Szczodrowska Agnieszka, 172, 149  
Szejka Magdalena, 101  
Szwaj Klaudia, 173  
Szwed Aleksandra, 137

**Ś**

Śledziński Paweł, 102

**T**

Taraba Anna, 138, 47  
Tomczyk Przemysław, 48

**W**

Wala Mateusz, 174  
Walczak Anna, 89  
Wawrocki Sebastian, 139  
Weremczuk Aleksandra, 175  
Wieczorkiewicz Dorota, 49  
Wiśnik Ewelina, 90, 84  
Witeczak Adrian, 50  
Wojciechowska Dominika, 91  
Wojciechowska Natalia, 176  
Wojdas Emilia, 140, 59, 73  
Wojtala Martyna, 58  
Wójtowicz Joanna, 92

**Z**

Zabielska Julia, 103  
Zabizsak Michał, 141  
Zawadzka Katarzyna, 142  
Zaczek Agnieszka, 93  
Zieliński Kamil, 152  
Zmarzły Nikola, 59, 73, 140

**Ż**

Żerko Szymon, 94  
Żyżniewska Małgorzata, 177

Wydrukowano z gotowych materiałów dostarczonych do Wydawnictwa UŁ

© Copyright by Uniwersytet Łódzki, Łódź 2016

Wydane przez Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego  
Wydanie I. W.07405.16.0.I

Ark. druk. 11,375

ISBN 978-83-8088-116-7

Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego  
90-131 Łódź, ul. Lindleya 8  
[www.wydawnictwo.uni.lodz.pl](http://www.wydawnictwo.uni.lodz.pl)  
e-mail: [ksiegarnia@uni.lodz.pl](mailto:ksiegarnia@uni.lodz.pl)  
tel. (42) 665 58 63



WYDAWNICTWO  
UNIwersytetu  
ŁÓDZKIEGO

[www.wydawnictwo.uni.lodz.pl](http://www.wydawnictwo.uni.lodz.pl)  
e-mail: [ksiegarnia@uni.lodz.pl](mailto:ksiegarnia@uni.lodz.pl)  
tel. (42) 665 58 63

ISBN 978-83-8088-116-7